



Université de Lille

Ecole Doctorale Science de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement
(SMRE)

THESE

Présenté en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE

Spécialité : Physico-chimie des matériaux

Par Guillaume BAI

le 8 octobre 2021

Modification de céramiques d'hydroxyapatite par irradiation électronique et/ou irradiation UV et/ou par plasma froid

Membres du jury :

M. E. BRES	Professeur, Université de Lille (Directeur de thèse)
M. U. MASCHKE	Directeur de recherche CNRS, Université de Lille (Co-directeur de thèse)
M. P. SUPIOT	Professeur, Université de Lille (Co-directeur de thèse)
Mme G. BERTRAND	Professeure, Université de Toulouse (Présidente)
Mme S. BELOUFA	Professeure, Université Hassan II Casablanca Maroc (Rapportrice)
Mme C. DAMIA	Maitresse de conférences HDR, Université de Limoges (Rapportrice)
M. J-C HORNEZ	Maitre de conférences HDR, Université Polytechnique Hauts de France (Invité)

*Con te partirò
Paesi che non ho mai
Veduto e vissuto con te
Adesso sì li vivrò
Con te partirò
Su navi per mari
Che io lo so
No no non esistono più
Con te io li vivrò
Quando sei lontana
Sogno all'orizzonte
E mancan le parole
E io sì lo so
Che sei con me con me*

Per mio Nonno.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de l'Unité Matériaux et Transformations (CNRS UMR 8207) dirigée par Patrice WOISEL, Professeur à l'université de Lille que je remercie pour m'avoir accueilli.

Je suis reconnaissant envers Guislaine BERTRAND, professeure à l'Université de Toulouse, pour présider ma soutenance de thèse.

Je tiens à remercier Soumia BELOUAFI, professeure à l'Université Hassan II Casablanca et Chantal DAMIA, maitresse de conférences à l'Université de Limoges qui me font l'honneur d'être mes rapportrices de thèse.

Je remercie Etienne BRÈS, Professeur à l'Université de Lille, pour avoir dirigé et encadré ce travail. Je remercie également Ulrich MASCHKE, directeur de recherche CNRS et Philippe SUPIOT, Professeur à l'université de Lille pour m'avoir accueilli dans leur équipe respective.

Merci à Jean-Christophe HORNEZ, Maitre de conférences de l'UPHC pour m'avoir fourni et expliqué les différentes étapes de fabrications du matériau sur lequel j'ai travaillé.

Je remercie également Guillaume PENEL et Guillaume FALGAYRAC pour m'avoir permis de réaliser des analyses dans leur équipe de recherche.

Toute ma gratitude à Ahmed ADDAD et Alexandre FADEL pour m'avoir formé sur le microscope électronique à balayage de la plateforme de Microscopie électronique de Lille ainsi que leur aide dans l'interprétation des résultats.

Je remercie également Pascal ROUSSEL et Laurence BURYLO pour leur aide dans l'interprétation des résultats de diffraction des rayons X et de m'avoir conseillé dans des expériences complémentaires.

Je remercie Nicolas NUNS et Pardis SIMON pour la réalisation d'analyses de mes échantillons sur leur dispositif respectif.

Je suis reconnaissant envers Nicolas BLANCHEMAIN et Mickael MATON pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe pour la réalisation des tests in vitro de mes échantillons. Merci pour le temps que vous avez consacré à mon travail.

Merci à Michel DERAEDT et Christian MALAS pour leur aide dans la réparation et la résolution des problèmes techniques sur les dispositifs que j'ai eu à utiliser.

شكرا à M. Dr. Chems-Eddine GHERDAOUI et Nouh ZEGGAI qui m'ont aidé à mon arrivé sur Lille.

Ana, Hussam, merci d'avoir partagé ce bureau avec moi. Votre humour et votre aide m'ont permis de mener ce travail à son terme. Merci pour tous ces moments qui ont contribué à faire du laboratoire un endroit à part.

J'exprime ma gratitude à tous les membres du laboratoire que j'ai côtoyés tout au long de ces années et qui m'ont apporté leur aide ou leur soutien ainsi que leur gentillesse.

ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

Al₂O₃ : Alumine

ASB : Albumine de sérum bovin

CaCO₃ : Carbonate de calcium

CAO : L'oxyde de calcium communément appelé « chaux »

CPS : Coups par seconde

DRX : Diffraction des Rayons X

EDX : Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (en anglais : Energy Dispersive X-ray)

HA : hydroxyapatite

HAG : Nomenclature des pastilles d'HA spécialement réalisées pour ces travaux de thèse

HAG EB : Nomenclature des pastilles d'HA irradiées par bombardement électronique sous air

HAG UV : Nomenclature des pastilles d'HA irradiées par ultraviolet

HAG P : Nomenclature des pastilles d'HA traitées par plasma froid

HAP : Poudre d'HydroxyApatite (en anglais : HydroxyApatite Powder)

HAX : Pastilles d'anciens étudiants dont l'historique n'est pas connu

LV : Lame de Verre de microscope optique

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

OPA : Orthophtalaldéhyde

PET : Poly(téréphtalate d'éthylène)

PBS : Solution tampon phosphate salin (en anglais : Phosphate Buffered saline)

Polissage « 4pts » : aux quatre points cardinaux du disque de polissage

Polissage « 8 » : en huit

Polissage « O » : en cercle

Polissage « sb » : sans bouger

PO₄³⁻ : groupements phosphates

Ra : Rugosité moyenne arithmétique

Rpm : Rotation par minute

Rq : Rugosité moyenne quadratique

Slpm : Litre standard par minute (en anglais : Standard Liter Per Minute)

THF : TétraHydroFurane

ToF-SIMS : Spectrométrie de masse des ions secondaires à temps de vol (en anglais : Time of Flight Secondary Ions Mass Spectroscopy)

u.a. : Unité arbitraire

uma : Unité de masse atomique

UV : Ultraviolet

XPS : Spectroscopie photoélectronique à rayons X (en anglais : X-ray Photoelectron Spectroscopy)

β -TCP : Forme Béta du Phosphate Tricalcique

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	iii
ABREVIATIONS.....	v
SOMMAIRE.....	vii
INTRODUCTION GENERALE	xiii

Chapitre I: État de l'art.....	1
A. Généralités sur les biomatériaux.....	1
B. Biocompatibilité d'un implant osseux	2
C. L'hydroxyapatite (HA)	2
1. Les phosphates de calcium (CaP)	2
2. Généralités sur l'hydroxyapatite (HA).....	4
a) Structure cristalline et composition	4
b) L'hydroxyapatite : un cristal ionique.....	5
c) Modification des charges de surface de l'HA	6
d) Interaction entre la surface d'HA et l'eau	7
3. Synthèse de l'hydroxyapatite par voie liquide	7
4. Principaux domaines d'utilisations de l'HA.....	8
a) Applications en catalyse	9
b) Autres applications en chimie	9
c) Dans le domaine médical.....	10
D. Mouillabilité et rugosité de surface.....	11
1. Définition de la mouillabilité.....	11
2. Influence de la rugosité sur la mouillabilité.....	12
3. Pollution de surface.....	13

4. Relation de la mouillabilité et de la rugosité de surface avec la réponse cellulaire	14
E. Traitement de surface	15
1. Traitements chimiques	15
2. Traitements sans apport d'éléments chimiques	16
a) Traitement par plasma	17
b) Irradiation UV	21
c) Irradiation électronique	24
3. Impact du traitement sur la surface	27
a) Interaction électrons-matière	27
(1) Interaction élastique	27
(2) Interaction inélastique	28
(3) Impact des traitements de surface	29
b) Affinité entre les espèces chimiques	30
F. Ciblage de l'application de ces traitements pour le domaine biomédical	32
G. Objectifs de la thèse	33
Chapitre II: Produits, matériels et méthodes	37
A. Préparation des pastilles d'hydroxyapatite	37
1. Etape de préparation de la poudre d'HA	37
2. Etape de préparation de la barbotine et mise en forme des pastilles	38
3. Etape de frittage des pastilles	38
B. Préparation des surfaces d'hydroxyapatite	38
1. Polissage	38
2. Nettoyage et stockage	39
C. Caractérisations physico-chimiques des pastilles d'hydroxyapatite	40
1. Mesures d'angles de goutte	40
a) Goniomètre portatif	40

b) Goniomètre KRUSS Drop Shap Analyser (DSA)	42
2. Profilométrie	43
3. Diffraction des rayons X	44
4. Spectroscopie Raman	46
5. Spectroscopie Infrarouge	47
6. Microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à un spectromètre de rayons X à dispersion d'énergie (EDX)	47
7. Spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS)	48
8. Spectrométrie de masse à temps de vol (Tof-SIMS)	49
D. Technique de traitement de surfaces	51
1. Irradiation électronique	51
2. Irradiation Ultraviolette	54
3. Plasma froid	55
E. Etude biologique <i>in vitro</i>	57
1. Stérilisation des pastilles	57
2. Milieu physiologique et prélèvements	58
a) Libération de gentamicine	58
b) Effet bactéricide	59
Chapitre III: Caractérisation des pastilles d'HA vierges et interactions avec l'eau	63
A. Caractérisation des anciennes pastilles	63
1. Mouillabilité et état de surface	63
a) Répétabilité des mesures d'angles de goutte	63
b) Corrélation avec la rugosité de surface	68
c) Microscopie optique et MEB	70
2. Composition et structure cristalline	74
a) Spectroscopie Infrarouge	74

b) Diffraction des rayons X.....	75
B. Sensibilité des surfaces de pastilles HAG au stockage	77
1. Stockage en étuve	78
2. Stockage à l'air libre.....	80
3. Immersion dans l'eau	80
4. En dessiccateur sous vide	81
C. Caractérisation des pastilles HAG- β -TCP.....	82
1. Composition et structure cristalline	82
a) Spectroscopie Infrarouge.....	82
b) Diffraction des rayons X.....	83
2. Spectroscopie Raman.....	87
3. Mouillabilité et phase β -TCP	91
D. Caractérisation des pastilles HAG	93
1. Composition et structure cristalline	93
a) Spectroscopie Infrarouge.....	93
b) Diffraction des rayons X.....	95
c) Spectroscopie Raman.....	97
2. Mouillabilité et état de surface.....	100
a) Importance du contrôle de l'état de surface.....	100
b) Standard de l'état de surface pour les pastilles HAG.....	105
c) Analyse de l'HA vierge ou humide	108
(1) Caractérisation par ToF-SIMS et XPS	108
(2) Diffraction des rayons X.....	115
(3) Spectroscopie Raman.....	120
d) Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges stockées en dessiccateur	123

Chapitre IV: Traitement par irradiation des surfaces des pastilles

..... **131**

A. Irradiation électronique 131

1. Influence du protocole de préparation des surfaces..... 131

2. Effets de dose 134

3. Effets liés à l'atmosphère lors des traitements 144

B. B Traitements impliquant rayonnement UV et plasma froid 161

1. Irradiation UV 161

a) Influence du protocole de préparation des surfaces 162

b) Effets de dose..... 165

2. Irradiation par plasma froid 174

a) Effet du temps 174

b) Effet de la puissance 175

3. Combinaison d'une irradiation UV et d'une irradiation électronique 184

Chapitre V: Résultats in vitro..... 191

A. Stérilisation des surfaces 191

B. Etude biologique, libération de principes actifs (gentamicine) 193

C. Etude microbiologique, effet bactéricide 198

D. Conciliation de l'étude biologique et de l'étude microbiologique 202

Conclusions générales et perspectives..... 209

Références 215

Liste des tableaux..... 227

Liste des figures 231

INTRODUCTION GENERALE

La faculté de l'eau à mouiller une surface est nommée « mouillabilité ». La détermination de cette propriété de surface se révèle très intéressante dans de nombreux domaines comme l'automobile (Diawara, 2011), le textile (Weidmann, 2010), etc... Les phénomènes qui entrent en jeu sont décrits par la compréhension des interactions survenant lors du contact entre le liquide et la surface mouillée. La singularité des surfaces joue donc un rôle important et impacte les propriétés de mouillabilité. La structure et la rugosité vont toutes deux augmenter la surface réelle de contact et impacter en conséquence la mouillabilité des matériaux. Il suffit de se pencher sur ce qui existe déjà dans le vivant pour trouver des exemples. La feuille de lotus possède une surface très hydrophobe qui amène l'eau à glisser (Barthlott and Neinhuis, 1997). Cela est dû à la présence d'une rugosité invisible à l'œil nu qui limite sa mouillabilité de surface.

Dans le domaine biomédical, le contrôle de ce paramètre a pour but de modifier la réponse des surfaces en fonction du milieu d'accueil (milieu physiologique). Plus précisément avec les molécules présentes dans le corps humain qui constituent ce milieu, ce qui va favoriser son incorporation en réduisant les effets néfastes. En effet, dans l'optique de réparer le tissu osseux, l'incorporation de céramiques est couramment répandue que ce soit pour un comblement osseux ou comme revêtement de prothèse. Avec une phase cristalline proche de la phase minérale osseuse qui la rend biocompatible et ostéoconductrice, l'hydroxyapatite de formule chimique : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, est la plus utilisée en clinique (LeGeros, 2002). Le contrôle des propriétés de surface de ces céramiques est donc un enjeu crucial pour moduler leurs interactions (Dorozhkin, 2010).

Pour ce faire, de nombreuses techniques de fonctionnalisations de surface existent comme le greffage, le dépôt en surface, les irradiations électroniques ou UV, le traitement par plasma froid,... Elles impliquent toutes des échanges différents dans un but commun : contrôler la réponse de la surface en fonction de son environnement.

L'objectif principal de la thèse est d'explorer le potentiel de trois dispositifs de traitements de surface à influencer les propriétés physico-chimiques d'une céramique d'hydroxyapatite frittée. Pour ce faire, plusieurs étapes ont été nécessaires. Le premier chapitre regroupe un état de l'art sur le matériau étudié ainsi que les différents dispositifs de modifications de surfaces employés. Le second chapitre est consacré au

processus de fabrications des céramiques et à la présentation des techniques de caractérisations et des dispositifs de traitements. Dans le chapitre III, une caractérisation minutieuse de la céramique avant traitement est conduite pour permettre une comparaison de résultats d'analyses avant et après traitement. Il y est présenté les protocoles de préparation de surface des céramiques mais aussi leur composition chimique. Une approche par le suivi de la mouillabilité de surface des échantillons est mise en place. Le chapitre IV s'attachera aux résultats obtenus après les différents traitements de surfaces. Les différentes modifications de mouillabilité, de structure ou de morphologie induites par les traitements y sont regroupées. Les conditions de traitements les plus favorables sont alors sélectionnées pour des études biologiques in vitro. Elles se trouvent dans le dernier chapitre de ces travaux qui est consacré à l'évaluation du potentiel antibactérien et de la bioactivité des surfaces modifiées.

Chapitre I : État de l'art

Chapitre I: État de l'art

Afin de situer le contexte de cette étude, il est nécessaire de revenir sur quelques définitions générales qui permettront de mieux appréhender les travaux entrepris.

A. Généralités sur les biomatériaux

Un biomatériau peut être défini comme un matériau utilisé pour remplacer une partie ou une fonction du corps de manière à être sans danger, fiable, économique et physiologiquement acceptable. C'est un matériau synthétique utilisé pour remplacer une partie d'un système vivant ou une fonction étroitement connectée avec un tissu

Matériaux	Avantages	Inconvénients	Exemples d'application
Métaux (Ti et ses alliages, Alliages de Co-Cr, Au, Acier inoxydable d'Ag, etc.)	Résistant, Dur, Ductile	Peut se corroder, Dense, difficile à fabriquer	Prothèses articulaires, Prothèses dentaires, Plaques et vis pour les os
Polymères (Nylon, Silicone, Caoutchouc, Polyester, Polytétrafluoroéthylène, etc.)	Résistant, Facile à fabriquer	Peu résistant, Déformation avec le temps, Peut se dégrader	Sutures, vaisseaux sanguins, prothèses pour tissus mous et cartilages (nez, oreille)
Composites (carbone- carbone, Renforcement des ciments osseux par des fils ou des fibres	Dur, Fait sur mesure	Difficile à fabriquer	Ciments osseux, résines dentaires
Céramiques (Alumine, Zircone, Phosphate de calcium)	Très biocompatible	Friable, Peu résistant, Faible face aux tensions.	Implants dentaires et orthopédiques

Tableau 1: Catégories de matériaux utilisés dans le corps humain (Park and Lakes, 2007).

vivant. Ces biomatériaux peuvent être classés dans 4 grandes catégories qui sont les métaux, les polymères, les composites et les céramiques référencées dans le tableau ci-dessus.

B. Biocompatibilité d'un implant osseux

La notion de biocompatibilité correspond aux biomatériaux qui sont capable de remplir leur rôle d'élément biocompatible sans avoir d'effets néfastes sur l'environnement biologique dans lequel ils se trouvent. Pour chaque catégorie de biomatériaux précédemment définie, différents problèmes sont à contrer pour correspondre à ces attentes. Cela donne donc lieu à différents facteurs à prendre en compte pour évaluer leur biocompatibilité. Les métaux qui possèdent une bonne résistance mécanique vont devoir palier leur usure au cours du temps, les débris pouvant éventuellement apparaître et leur résistance à la corrosion. Les fluides biologiques se montrent très agressifs envers les métaux implantés qui vont être corrodés. Cela va conduire à un relargage d'ions métalliques dans les tissus proches, conduisant à une dégradation progressive de leur implantation (Hallab et al., 2001).

Les céramiques en phosphates de calcium ont un avantage en comparaison. Leur incorporation dans le corps humain conduit uniquement à un relargage d'ions déjà présent en grande quantité du fait de leur structure proche des os. Cette qualité en fait un implant de premier choix (Dorozhkin, 2010).

C. L'hydroxyapatite (HA)

1. Les phosphates de calcium (CaP)

Certains phosphates de calcium font partie de la catégorie des biocéramiques ou bien biomatériaux céramiques. Ils sont dit bioactifs car ces biocéramiques vont interagir avec le milieu dans lequel elles sont implantées et vont former des liaisons fortes avec les os. Ceci est un avantage comparé aux céramiques bio-inertes (en alumine par exemple) qui ne proposent pas d'interaction directe avec le milieu dans lequel ils sont implantés. Leur biofonctionnalité est également très utile, cela veut dire qu'ils ont une bonne capacité à remplir les fonctions ciblées pour lesquelles ils ont été conçus.

Les phosphates de calcium sont le plus facilement observable en milieux biologiques sous leur forme carbonée. Elles possèdent la phase cristalline majoritaire des tissus durs que sont les os et les dents (dont l'émail en fait partie) Le tableau suivant regroupe les principaux composés existants classés en fonction de leur rapport Ca/P, la concentration atomique de calcium divisée par celle du phosphate.

Composé	Formule	Rapport Ca/P
Phosphate de calcium monohydrate (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Phosphate de calcium anhydre (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
Phosphate dicalcique dihydrate (DCPD)	$\text{Ca}(\text{HPO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1
Phosphate dicalcique anhydre (DCPA)	$\text{Ca}(\text{HPO}_4)$	1
Phosphate octocalcique (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
α - tricalcium phosphate (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β - tricalcium phosphate (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Phosphate de calcium amorphe (ACP)	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2 - 2,2
hydroxyapatite déficitaire en calcium (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	1,5 – 1,67
hydroxyapatite stœchiométrique (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Phosphate tétracalcique (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2

Tableau 2: Classement des différents orthophosphates de calcium utilisés comme biomatériaux suivant leur rapport Ca/P.

Si l'on prend en compte le fait que les groupements phosphates (PO_4^{3-}) ne sont pas disposés à laisser bons nombres de lacunes, le rapport Ca/P peut être attribué à ce nombre de lacunes. Il permet alors de déterminer rapidement le nombre d'atomes de calcium vacants de la maille du matériau (Rey et al., 2011).

Les phosphates tricalciques (α -TCP et β -TCP) sont utilisés principalement dans la réalisation de ciments pour les comblements osseux. Ils se dégradent facilement en milieu physiologique, ce qui en fait des matériaux de choix comme biocéramiques résorbables. La phase de β -TCP est plus stable à température ambiante. La phase α -TCP nécessite une température beaucoup plus élevée de 1125°C.

L'hydroxyapatite déficitaire en calcium (CDHA) est principalement observable en milieu biologique. Sa non-stœchiométrie vient de la substitution de groupements PO_4^{3-} de l'apatite par des groupements HPO_4^{2-} . Son rapport Ca/P est donc inférieur à celle de l'HA stœchiométrique ($\text{Ca/P} = 10/6 = 1,67$).

2. Généralités sur l'hydroxyapatite (HA)

a) Structure cristalline et composition

L'hydroxyapatite stœchiométrique (HA) possède une structure cristalline très proche de la phase inorganique des os du corps humain (Woodard et al., 2007). Il est très utilisé pour la réalisation de revêtements sur des prothèses ou bien directement comme prothèses orthopédiques. Cela est également dû à sa très bonne stabilité dans le temps. L'hydroxyapatite biologique (hydroxy-carbonate apatite, HCA) contient beaucoup d'impuretés principalement dû à sa structure qui est propice à la substitution d'ions (voir tableau 3).

Composition	Email	Dentine	Bone	hydroxyapatite
calcium [wt %] *	36,5	35,1	34,8	39,6
phosphore [wt %] *	17,7	16,9	15,2	18,5
Ca/P (rapport molaire) *	1,63	1,61	1,71	1,67
sodium [wt %] *	0,5	0,6	0,9	-
magnésium [wt %] *	0,44	1,23	0,72	-
potassium [wt %] *	0,08	0,05	0,03	-
Carbonate [wt %]	3,5	5,6	7,4	-
fluorure [wt %] *	0,01	0,06	0,03	-
Chlorure [wt %] *	0,3	0,01	0,13	-
Inorganique [wt %]	97	70	65	100
Organique [wt %]	1,5	20	25	-
Eau [wt %]	1,5	10	10	-

Tableau 3: Comparaison des compositions des phases inorganiques de tissus humain calcinés. (* mesures sur cendres) (Dorozhkin and Epple, 2002).

L'HA est très souvent utilisée dans le domaine de la catalyse (Ghantani et al., 2013) ou en chromatographie pour l'absorption de protéines (Kawasaki, 1991).

HA cristallise sous la forme d'une maille hexagonale de groupe d'espace $P6_3/m$ comme le montre la figure ci-dessous. Elle adopte la formule chimique des apatites $Me_{10}(XO_4)_6(Y)_2$ avec Me un cation bivalent, XO_4 un groupement anionique et Y un anion monovalent.

Me	XO ₄	Y
Ca ²⁺ , Na ⁺ , Sr ²⁺ , Pb ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺	SiO ₄ ⁴⁻ , CO ₃ F ³⁻ , SO ₄ ²⁻ , AsO ₄ ³⁻ , PO ₄ ³⁻ , CO ₃ ²⁻ , VO ₄ ³⁻	CO ₃ ²⁻ , OH ⁻ , O ₂ ⁻ , S ₂ ²⁻ , F ⁻ , H ₂ O, O ²⁻ , Cl ⁻ , N ₂ , I ⁻ , Br ⁻ .

Tableau 4: Substitutions non exhaustives dans la maille des apatites.

Dans la maille élémentaire de formule Ca₁₀(PO₄)₆OH₂, il est noté la présence d'atomes de calcium non équivalents qui ne présentent pas le même environnement atomique. Ils sont notés Ca₍₁₎ et Ca₍₂₎. Les atomes de calcium des sites Ca₍₁₎ sont coordonnés avec 9 atomes d'oxygène tandis que ceux du sites Ca₍₂₎ ne sont coordonnés qu'avec 6 atomes d'oxygène et un groupement hydroxyle. Les polyèdres de Ca₍₁₎ et Ca₍₂₎ sont liés par un partage d'un atome d'oxygène d'un tétraèdre de PO₄³⁻. Cependant, la substitution du groupement OH⁻ par un atome de fluor ou de chlore n'affectera que le site Ca₍₂₎.

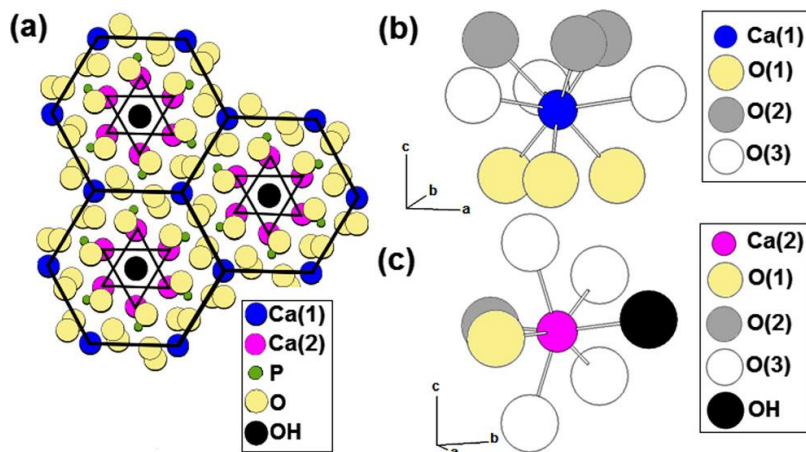


Figure 1: (a) Projection du plan (001) de la maille d'hydroxyapatite sur le plan xy, (b) environnement atomique des sites Ca₍₁₎ et (c) environnement atomique des sites Ca₍₂₎ (Zougrou et al., 2016).

Ce sont donc les tétraèdres XO₄ qui définissent le squelette de la maille. Dans le cas de l'HA, les paramètres de mailles sont a = b = 0,9432 nm et c = 0,6881 nm (Zougrou et al., 2016) et une densité théorique de 3,156 g.cm³ (Lazić et al., 1996).

b) L'hydroxyapatite : un cristal ionique

L'HA est un cristal ionique (Khan and Chaudhry, 2019), c'est-à-dire que la majorité des liaisons entre atomes sont de types ioniques. Les différences de charges, que l'on nomme électronégativité, entre un métal et un non-métal vont conduire à une liaison chimique entre ces éléments. Ceci permet donc l'association des cations Ca²⁺ avec les anions PO₄³⁻ et OH⁻ pour former la maille d'HA avec une parfaite compensation des charges positives et négatives (Tasker, 1979). La présence d'anions ou de cations en surface va donc influencer la charge de surface du matériau. Il en résulte que les

différents plans cristallins de l'HA possèdent des charges de surfaces différentes les uns des autres qui est fonction de la présence d'une majorité de cations ou d'anions en surface. Un paramètre qui mène à de telles différences est la distinction des atomes de calcium $Ca_{(1)}$ et $Ca_{(2)}$ citée précédemment qui possèdent un environnement atomique différent ($Ca_{(2)}$ comporte un groupement OH). Les groupements hydroxyles sont positionnés au centre de triangles formés par des atomes de calcium (figure 1 (a)). Cela forme des colonnes de groupements hydroxyles parallèles à l'axe c. Dans le cas de l'HA, les protons au sein d'une même colonne ont un positionnement aléatoire qui est soit supérieur soit inférieur (voir figure 2) par rapport à l'anion O^{2-} donnant lieu à un arrangement antiparallèle (Hochrein et al., 2005). Cet arrangement aléatoire débouche sur une dissymétrie de la maille. L'orientation des groupements OH^- n'étant pas symétrique, la surface haute et la surface basse de la maille ne comportent pas le même nombre de protons et donc pas la même charge.

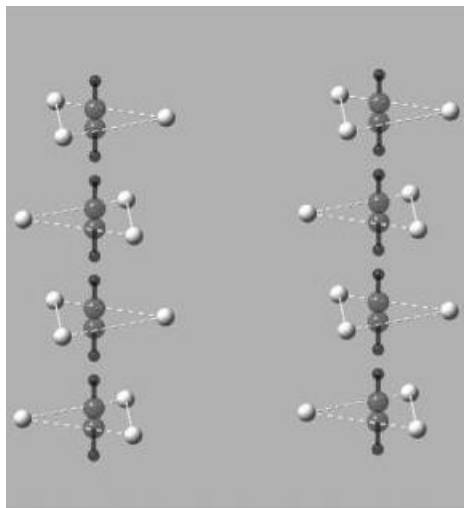


Figure 2: Triangles de calcium $Ca_{(2)}$ (en blanc) qui intègrent les groupements OH avec un positionnement haut et bas. L'occupation des positions hautes et basses est de 0,5 (en noir) (Hochrein et al., 2005).

c) Modification des charges de surface de l'HA

Une distribution locale de charge à la surface d'un biomatériau est un paramètre qui joue un rôle important pour définir ses interactions avec des espèces biologiques (Tofail, 2011). Il reste cependant beaucoup de mécanismes non expliqués pour définir correctement la nature exacte de ces interactions. La modification des charges de surfaces peut se faire de différentes manières.

L'application d'un potentiel à l'aide d'électrolytes de KCl comme (Harding et al., 2005) conduit à une modulation de la charge de surface d'HA à une échelle nanométrique. Ceci combiné au contrôle du pH de la solution, permet de choisir d'accumuler des

charges positives ou négatives en surface de l'HA dans le but par exemple de contrôler l'adsorption ou la désorption d'ions Ca^{2+} .

L'irradiation électronique a montré sa capacité à modifier le potentiel électrique de surface et la mouillabilité de surface d'HA. Ce qui a des conséquences directes sur l'adhésion de protéines et de bactérie (M.Gregor et al., 2015).

d) Interaction entre la surface d'HA et l'eau

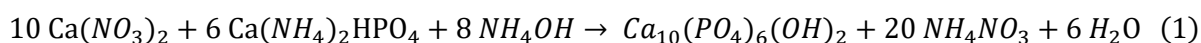
La singularité de la surface ionique de l'HA en fonction du milieu en contact avec elle induit une adaptation de celle-ci et donc l'apparition de charges de surfaces. Ce qui donne lieu à des études de simulations d'interactions avec des milieux tel que l'eau (Lin and Heinz, 2016; Zhao et al., 2014). Il en ressort une réorganisation des ions calcium et phosphates en surface de l'HA pour favoriser les interactions avec les molécules d'eau. Le pH de l'eau, qui est par définition la concentration en ions H^+ , influence cette réorganisation de surface par l'association des ions H^+ et PO_4^{3-} .

Très peu d'ions H^+ sont présents en solution à pH basique, il n'y a donc pas d'interactions possibles. A partir d'un pH égal à 10, des ions H^+ peuvent être captés par un atome d'oxygène de PO_4^{3-} pour former des groupements HPO_4^{2-} . A des pH acide (pH = 1), la forte concentration en H^+ rend possible la formation de groupements H_2PO_4^- . Cela se répercute sur les charges atomiques des atomes d'oxygènes qui modifient les forces de répulsions entre eux. La morphologie des tétraèdres PO_4^{3-} est donc impactée avec des angles entre les liaisons P-O différents qui influencent inévitablement la structure cristalline et donc les plans cristallins en surface (Lin and Heinz, 2016).

Cette adaptation de surface en fonction du milieu avec lequel elle est en contact est un point clef de son utilisation dans différents domaines d'applications que l'on verra par la suite.

3. Synthèse de l'hydroxyapatite par voie liquide

La synthèse par voie liquide est utilisée pour synthétiser l'HA par précipitation. Les réactifs utilisés sont le nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et l'hydrogènephosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ à placer en présence d'ammonium NH_3 (Destainville et al., 2003; Raynaud et al., 2002). L'ajout progressif de l'hydrogènephosphate de diammonium dans la phase aqueuse de nitrate de calcium conduit à la précipitation de l'HA comme l'indique la formule suivante.



Une agitation pendant 24 heures à une température de 90°C est appliquée au mélange. Le solide récupéré par filtration est par la suite filtré et calciné pour obtenir une poudre d'HA avec une granulométrie contrôlée. Cette méthode est la plus générale pour l'obtention d'une poudre d'HA. Il faut veiller toutefois à respecter la proportion Ca/P pour n'obtenir que de l'HA. La figure 3 nous aide à déterminer les différentes phases non désirées qui peuvent apparaître. Un mélange d'HA et de phosphates tricalcique est obtenu avec une proportion Ca/P inférieure à 1,67. Pour une valeur supérieure, c'est la présence de chaux (CaO) en plus d'HA qui est obtenue.

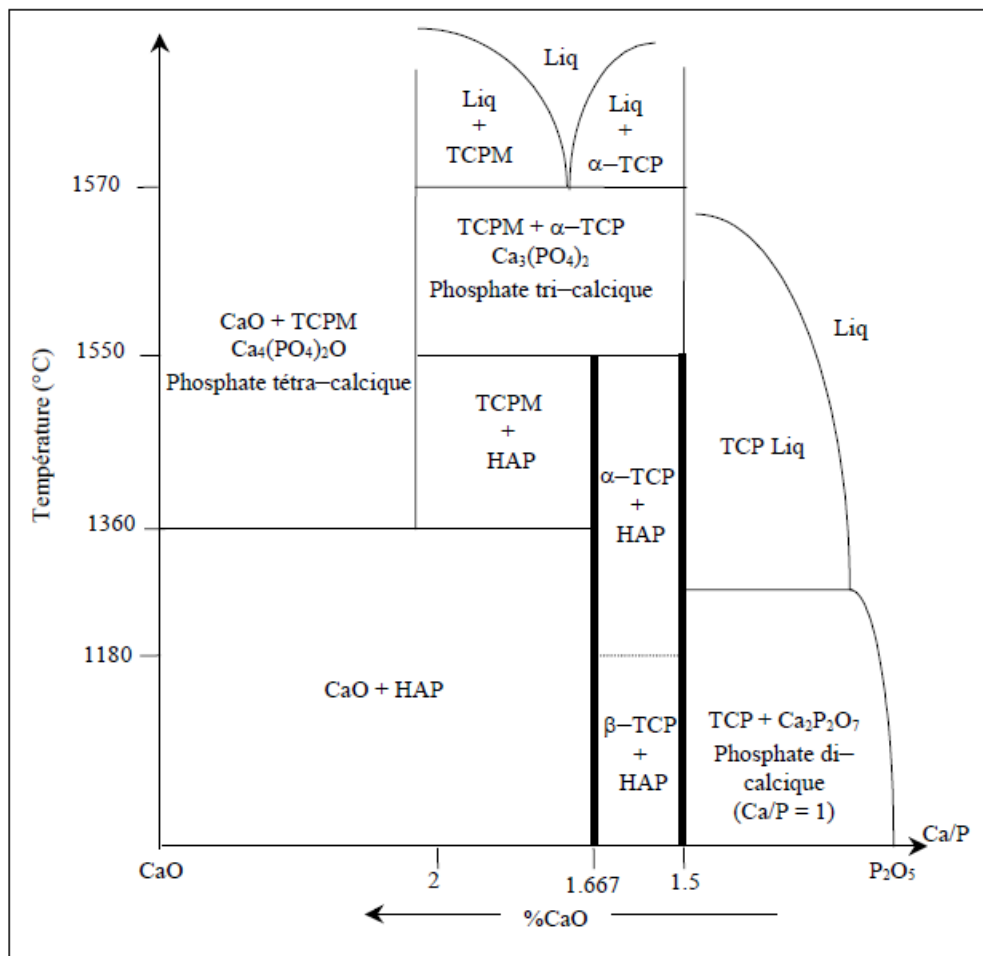


Figure 3: Diagramme de phases de l'hydroxyapatite.

La synthèse d'HA est également réalisable par voie solide en effectuant une cristallisation à haute températures (entre 1200 et 1300°C). Le contrôle de la granulométrie reste cependant compliqué comparé à la voie liquide (Riboud, 1973).

4. Principaux domaines d'utilisations de l'HA

Comme dit précédemment, l'HA possède une phase cristalline très proche de celle de l'hydroxyapatite biologique (HCA). Cela en fait le parfait matériau d'implantation dans

le corps humain. Néanmoins, il n'empêche pas ce matériau de trouver des utilisations dans d'autres domaines.

a) Applications en catalyse

L'hydroxyapatite est un matériau très utilisé dans le domaine de la catalyse hétérogène. Sa grande stabilité la conduit à servir de support stable qui ne souffre d'aucune modification durant les changements de conditions des catalyses. Il le démontre pendant l'oxydation d'alcools (Opre et al., 2005) avec la présence du ruthénium comme métal jouant le rôle d'espèce active.

Elle est également utilisée pour des catalyses acides et basiques du fait de ses propriétés intrinsèques des groupements hydroxyles et phosphates qu'elle contient. En catalyse acide, elle remplace AlCl_3 dans les réactions de Friedel-Crafts (Sebti et al., 2001), ce qui mène à rendre le procédé moins polluant. En catalyse basique, son utilisation dans la réaction de Guerbet permet une formation sélective de butanol à partir d'éthanol (Tsuchida et al., 2006), ce que d'autres oxydes basiques comme CaO ou MgO sont incapables de faire. En catalyse asymétrique, elle permet l'obtention de composés énantiomères purs en évitant les inversions (Wuyts et al., 2003).

b) Autres applications en chimie

Des spécificités de la structure cristalline de l'HA peuvent être utiles comme son aptitude à autoriser les substitutions. Cela lui permet son utilisation dans la dépollution des eaux contaminées par des cations métalliques (Suzuki et al., 1981). Elle y joue le rôle d'échangeur inorganique de cation. Après une fonctionnalisation de sa surface par une réaction de silylation de dérivés d'organosilane, sa surface capte les ions fer et cobalt en solution aqueuse (da Silva et al., 2006).

Dans une colonne chromatographique, l'HA est couramment utilisé comme phase stationnaire pour réaliser la séparation de protéines. Les résidus basiques et carboxyliques des protéines vont induire à des interactions d'absorptions avec les ions PO_4^{3-} et les ions Ca^{2+} favorisant les séparations (Renault et al., 2006; Schubert and Freitag, 2007).

L'utilisation des apatites est aussi envisagée dans le traitement des sols (Boisson et al., 1999).

Dans le domaine de l'agriculture, son association avec du cuivre par fonctionnalisation conduit à son utilisation comme pesticides en relarguant des ions Cu^{2+} (Battiston et al., 2018).

c) Dans le domaine médical

Si l'on en revient au domaine du biomédical, l'HA, comme la majorité des phosphates de calcium, supporte les phénomènes d'adhésion des ostéoblastes ainsi que sa prolifération. Les ostéoblastes sont les cellules souches présentes dans la moelle osseuse qui correspondent à la forme de base des cellules osseuses en cours de développement. Elles permettent un renouvellement continu du tissu osseux en duo avec les ostéoclastes. Les ostéoblastes contribuent à une dégradation des cellules osseuses pour permettre le renouvellement de ces cellules à l'aide des ostéoblastes. Cependant, le corps humain ou tout autre mammifère contiennent des centaines de types de composants organiques, protéines et macromolécules biologiques (Marieb and Lachaine, 2005). Associer les propriétés d'un matériau à implanter avec une molécule déjà présente dans le milieu semble donc une bonne idée pour améliorer son incorporation.

L'HA a par exemple été fonctionnalisée avec une multitude de composants bio organiques comme le chitosan, possédant des propriétés antibactériennes, afin de conduire à une amélioration de l'attachement cellulaire et de la prolifération des cellules (Fernández et al., 2014). D'autres ont suivies comme l'agarose (Alcaide et al., 2009), la cellulose (Salama et al., 2014), des vitamines D₃ (Jung et al., 2009) et B₁₂ (Verma et al., 2016), des protéines (Luo et al., 2018; Zurlinden et al., 2005),...

Le dopage de l'HA à l'aide de différents ions métalliques est aussi courant avec par exemple des ions zinc ou magnésium (Dasgupta et al., 2010). Ceci dans le but de combiner les propriétés bénéfiques des deux matériaux conduisant à des améliorations de densité, de microdureté et de résistance à la rupture par rapport à de l'HA pur. Une amélioration d'interaction avec les cellules peut être aussi obtenue par dopage avec des ions fluor (Uysal et al., 2014), que ce soit une augmentation de la prolifération ou bien de l'activité de celles-ci.

Comme la méthode de synthèse par voie liquide permet un bon contrôle de la granulométrie finale, la fonctionnalisation de nanoparticules d'HA est également très étudiée. Ces nanomatériaux sont par exemple utilisés pour la délivrance de principes actifs en milieu physiologiques (Shi et al., 2010). Le couplage d'une nanoparticule d'HA avec un polymère rend possible la création d'implants bioactifs et mieux tolérés par l'organisme (Wang, 2003). Il peut être combiné à cela un rôle de vecteur de médicaments grâce à une structure poreuse organisée (Hong et al., 2011).

Sur des prothèses en biomatériaux comme le titane, l'HA est souvent utilisée comme « enduit » pour favoriser l'ostéointégration (Choudhury, 2011).

Il existe quelques études d'utilisation comme ciment pour remplacer les greffes osseuses dans le domaine de la chirurgie faciale (Lee et al., 2010).

D. Mouillabilité et rugosité de surface

Pour pouvoir évaluer l'interaction d'une surface avec un milieu liquide, la mesure dite de mouillabilité est la plus couramment utilisée. Elle est décrite ci-après.

1. Définition de la mouillabilité

La mouillabilité d'une surface caractérise la facilité avec laquelle une goutte d'eau déposée s'étale sur celle-ci. Ce paramètre est crucial dans de nombreux domaines comme les textiles (Weidmann, 2010), l'automobile (Diawara, 2011), etc ... Il est le plus souvent utilisé sur différents systèmes pour rendre compte et les comparer entre eux (Yadav et al., 2016). Cette mouillabilité est définie par l'angle de contact (noté θ) formé par le liquide sur le solide et régie par trois paramètres de tensions interfaciales qui sont les interactions entre les 3 états de la matière mis en présence. La tension solide-liquide, solide-vapeur et liquide-vapeur notées respectivement γ_{sl} , γ_{sv} et γ sur la figure ci-dessous.

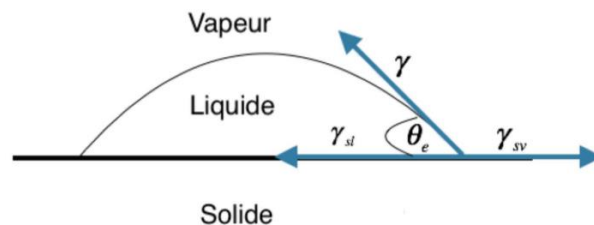


Figure 4: Illustration des différentes tensions existantes durant le contact d'une goutte d'eau avec un solide (Kalthoum, 2015).

Lorsque ce système est à l'équilibre, la somme des 3 forces appliquées à la surface est nulle. Ce qui conduit à la relation de Young :

$$\gamma * \cos(\theta_e) = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad (2)$$

On en déduit donc un angle à l'équilibre θ_e . Elle détermine le caractère de la surface étudiée à savoir hydrophile pour des valeurs inférieures à 90° et hydrophobe pour des valeurs supérieures à 90° .

Cette valeur se base sur plusieurs hypothèses qui sont une surface lisse, plane et homogène chimiquement pour le solide.

2. Influence de la rugosité sur la mouillabilité

Le modèle de référence qui prend en compte la rugosité de surface est celui de (Wenzel, 1936). Il suppose que l'angle local vérifie bien la relation de Young en proposant de déterminer l'angle θ^* défini sur une surface rugueuse chimiquement homogène. Il suppose également que l'échelle de la rugosité est relativement faible par rapport à la taille de la goutte et que toute la surface rugueuse est immergée. Après définition du paramètre r comme le rapport de surface réelle sur la surface projetée, on obtient la relation suivante :

$$\cos(\theta^*) = r * \cos(\theta_e) \text{ avec } r \geq 1 \quad (3)$$

r est donc égal à 1 pour une surface lisse et permet de remonter à la relation de Young. On peut déduire de l'équation de Wenzel qu'une surface lisse hydrophobe verra son critère hydrophobe augmenter avec l'augmentation de la rugosité de surface. Ceci est également vrai pour une surface hydrophile. L'effet de la rugosité serait alors d'accentuer l'effet hydrophile ou hydrophobe de la surface étudiée.

Un second modèle a été développé par la suite par (Cassie and Baxter, 1944) prenant en compte les hétérogénéités physiques et chimiques. Une fraction surfacique f_i est définie pour chacune des hétérogénéités donnant lieu à l'équation qui suit :

$$\cos(\theta_{CB}) = \sum_i f_i * \cos(\theta_i) \quad (4)$$

Où θ_{CB} est l'angle de contact apparent et θ_i la valeur de l'angle sur la phase i dans les conditions de Young. Dans le cas d'une seule phase, cette équation vérifie celle de Wenzel. Dans la plupart des cas, ces méthodes sont restreintes car elles ne prédisent pas de façon satisfaisante l'évolution des mesures d'angle de goutte en fonction de la rugosité. Plusieurs travaux rapportent ces faits comme (Oliver et al., 1976). La sensibilité des méthodes de mesures de rugosité est en constante évolution avec le développement de nouvelles machines. La caractérisation d'angle de goutte sur des surfaces rugueuses est une étude constante qui est aujourd'hui encore étudiée dans de nombreux domaines. Les modèles théoriques ne sont donc pas universels et doivent être adaptés au cas par cas.

Sur une surface réelle, c'est à dire une surface qui n'a pas été contrôlée et créée, la relation entre la mouillabilité et la rugosité semble dépendante du matériau et du traitement morphologique de la surface. Une étude sur 3 matériaux différents qui sont du titane et deux alliages TiAl6V4 et TiNi ont corrélé des valeurs de R_a aux valeurs d'angles de goutte (Lim and Oshida, 2001). Les résultats de plusieurs traitements ont

été recroisés, révélant que chaque topographie amène à des valeurs d'angles différentes suivant le matériau que l'on considère. (Ponsonnet et al., 2003) ont quant à eux travaillé sur des alliages de nickel-titane. Ils ont tenté de relier la mouillabilité des surfaces avec la rugosité induite par des polissages à différents grade (#80, #400 et #2400). Les résultats montrent que l'étalement de la goutte lors des mesures est influencé par la rugosité. Une forte rugosité donnerait lieu à un étalement plus rapide ainsi qu'à une déformation de la goutte.

Il n'y a pas de référence générale pour déterminer combien la surface d'un matériau doit être lisse et ainsi estimer que la rugosité ne va pas impacter les mesures de mouillabilité. Il est recommandé de préparer une surface la plus lisse possible avec la technique utilisée. Plusieurs techniques de préparation de surfaces lisses ont été développées comme le pressage à chaud (Spelt et al., 1986), l'assemblage multicouches (Bain, 1989) ou par polissage de surface (Vargha-Butler et al., 1986) pour en citer quelques-unes.

3. Pollution de surface

La chimie de surface influence les mesures de mouillabilité aussi bien que la rugosité comme nous venons d'en discuter. Il est donc indispensable de pouvoir dissocier les deux. Un contrôle de la chimie de surface est donc indispensable pour l'interprétation de résultats et donc l'obtention d'une surface propre avant toute mesure. Une surface propre est par définition une surface qui possède une composition chimique homogène et identique à celle du cœur du matériau. Si l'on applique cette définition à n'importe quel matériau, aucun ne possède une telle surface. Toute surface laissée à l'air ambiant va être contaminée par une couche hydrocarbonée qui sera absorbée en surface. Si l'on prend le cas des métaux, une couche préalable d'oxyde formée naturellement pour protéger le cœur du métal se crée instantanément. Dans notre cas, empêcher le plus longtemps possible la formation de la couche hydrocarbonée en surface des échantillons jusqu'à leur utilisation est un point clef pour la suite de l'étude. De multiples protocoles de nettoyage de surface sont disponibles dans la littérature. L'utilisation d'un bain à ultrason avec différents solvants comme l'eau distillée (Lim and Oshida, 2001), l'acétone (Mekayarajjanonth and Winkler, 1999) ou l'éthanol (Größner-Schreiber et al., 2001) est une méthode fréquemment utilisée. Il est également possible de procéder à l'immersion des échantillons dans un bain de soude (Annarelli et al., 1999) ou bien des solutions commerciales spécifiques (Howlett et al.,

1994). Ou encore une méthode de nettoyage par projection d'un jet d'air sur la surface (Hjerppe et al., 2016).

La diversité des protocoles est très large, sans compter les nombreux travaux qui ne précisent pas leurs étapes de nettoyage, rendant les comparaisons ou toute interprétation des résultats vains.

4. Relation de la mouillabilité et de la rugosité de surface avec la réponse cellulaire

Comme expliqué précédemment, la mouillabilité est une propriété qui caractérise un matériau en fonction de son affinité avec un liquide par dépôt d'une goutte sur sa surface. Si l'eau est le liquide utilisé, la mesure de θ_e (équation (2)) permet la catégorisation de la surface comme étant hydrophile ou hydrophobe pour des valeurs de θ_e inférieures ou supérieures à 90° respectivement. Cette propriété de surface joue un rôle important pour l'amélioration de la biocompatibilité des matériaux. La littérature décrit de façon générale que les surfaces hydrophiles ont une affinité marquée avec les cellules humaines et animales. Les ostéoblastes cités précédemment qui favorisent la reconstruction osseuse sont plus à même de proliférer sur des surfaces hydrophiles (Lim et al., 2004). La propagation de l'épiderme humain serait également améliorée. (Ruardy et al., 1995) ont réalisé une étude montrant une augmentation de formation d'épiderme en partant d'une surface hydrophobe pour tendre de plus en plus vers une surface hydrophile. (Lee et al., 2000) ont quant à eux appliqué un gradient de mouillabilité sur des polymères, démontrant ainsi que des surfaces à mouillabilité extrême (c'est-à-dire très hydrophile ou très hydrophobe pour des valeurs proches de 0° et supérieures à 150° respectivement) ne conduisent pas forcément à une amélioration significative de l'adhésion cellulaire. Un caractère hydrophile moyen est suffisant. Une étude sur des plaques de verres a montré que la mouillabilité est un paramètre influençant fortement le comportement des cellules de fibroblastes (cellules que l'on trouve dans la peau) (Rushe et al., 2005). La rugosité des plaques n'a pas été prépondérante dans ces résultats.

Cependant, il est largement prouvé que la rugosité joue également un rôle important dans l'interaction avec les cellules. (Keller et al., 2003) ont conclu qu'un lien direct entre un attachement cellulaire et les valeurs de rugosité R_a est vérifiable sur du titane pur. Une autre étude montre que l'irrégularité de la rugosité de surface par un sablage rend possible l'attachement et l'étalement de cellules ostéoblastes (Bowers et al., 1993; Martin et al., 1995) .

Bien que la comparaison entre les différents travaux reste complexe du fait de la grande diversité des espèces utilisées, il en ressort que le contrôle de la mouillabilité d'une surface d'un matériau influencera le comportement cellulaire. Il en est de même pour la rugosité et la propreté de la surface. Toutes ces interactions vont jouer un rôle essentiel et influencer l'absorption de protéines, l'adhésion cellulaire, la prolifération et la différenciation des espèces en présence. Ce qui va conduire à de meilleures performances du matériau dans des milieux biologiques. Par exemple, par la formation de fortes interfaces d'un implant avec l'os et limiteront les zones d'infections pour permettre une bonne liaison des deux systèmes.

Pour conclure, quelques points importants peuvent être regroupés après cette vue d'ensemble. La caractérisation des surfaces de matériaux avec les paramètres de rugosité, de mouillabilité et de comportement cellulaire implique que ces trois paramètres sont liés les uns aux autres. Les modèles théoriques qui relient la mouillabilité de surface à sa rugosité ne sont pas applicables pour toutes les surfaces et doivent donc être adaptés à chacun. La modification de morphologie, le moyen de stockage des surfaces et le mode de nettoyage sont autant de paramètres dont dépend la mouillabilité. Une modification de la mouillabilité de surface est donc un bon indicateur pour déterminer qu'une modification a eu lieu durant le traitement.

E. Traitement de surface

Le terme fonctionnalisation désigne l'action d'ajout de nouvelles fonctions, caractéristiques ou propriétés à un matériau afin qu'il remplisse un but précis. Une amélioration des propriétés déjà existantes peut également être assimilée à une fonctionnalisation. Les CaP sont déjà très utilisés dans le domaine médical tels quels. Améliorer leur propriété biologique ne peut qu'être bénéfique pour pouvoir résoudre un large panel de problématiques. Nous pouvons distinguer deux catégories de fonctionnalisation de surfaces qui se distinguent par le fait d'ajouter ou non un ou plusieurs éléments chimiques au matériau étudié.

1. Traitements chimiques

Les éléments peuvent être incorporés durant la synthèse du matériau, greffés ou déposés en surface ou bien tout simplement mis en présence en solution. De nombreux exemples de telles fonctionnalisations sont présentes dans la littérature. Une HA combinée à de la gélatine favoriserait le comblement osseux et donc son utilisation comme biomatériau (Hillig et al., 2008). L'association d'HA avec du chitosan,

un polymère largement utilisé dans le domaine des biomatériaux pour ses propriétés antibactériennes favorisant la régénération tissulaire, conduit à une amélioration de la prolifération et de l'adhésion cellulaire comparativement au chitosan seul.

Durant le processus de synthèse, une substitution dans la maille d'HA par différents ions permet de combiner les bénéfices des deux matériaux. Dans le cas d'ions silicium, une meilleure réparation osseuse est obtenue avec l'ajout de ces ions (Hing et al., 2006). Mais la substitution avec des ions carbonates reste la plus répandue car elle tend à incorporer de la phase organique à la phase inorganique de l'HA, la rapprochant de la phase des os qui comprend ces deux phases. La substitution des ions hydroxyle ou phosphates par des ions carbonates dans différentes proportions durant la synthèse des produits les classifie en 3 types d'hydroxyapatite carbonées. Ceci en fonction de la substitution des groupements hydroxyles, des groupements phosphates ou des deux sites en même temps par des ions carbonates (Lafon et al., 2008; Merry et al., 1998; Tadic et al., 2002). Les hydroxyapatites carbonées implantées sont alors encore plus solubles que le β -TCP, qui lui-même est plus soluble que l'HA pure (Barralet et al., 2000).

Il est également possible de procéder à l'incorporation d'ions directement dans le matériau (Girija et al., 2008). Girija et al. ont réalisé le bombardement de surface d'HA pour améliorer sa biocompatibilité par des ions oxygène. L'incorporation de ces éléments mène à des modifications chimiques et structurales des surfaces qui tendent à favoriser plusieurs paramètres qui jouent sur la bioactivité et la biorésorption du matériau.

Enfin, il est aussi étudié la fonctionnalisation de surface de revêtement de CaP (applicable à de l'HA ou du β -TCP) par des particules de métaux comme l'argent en solution (Lee and Murphy, 2013). Le contrôle de la libération en continu des ions d'argent aide à réduire la dissolution du revêtement et à supprimer les infections pouvant survenir durant l'association d'un implant avec son point d'attache.

2. Traitements sans apport d'éléments chimiques

Dans le cas où aucun ajout n'est réalisé, la fonctionnalisation se fait par des phénomènes physiques sans apport de matière. Cela regroupe les traitements thermiques, les applications de champs électriques ainsi que le bombardement par des éléments chargés.

Certaines de ces méthodes sont utilisées pour permettre la fonctionnalisation d'un support avec de l'HA. Par exemple, l'ajout de particules d'HA lors d'un processus

d'électrospinning de fibres de soie rend possible la présence d'HA aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des fibres finales (Ko et al., 2018; Yasuda et al., 2017). Dans ce cas de figure, l'HA est incorporée dans la structure d'un autre afin qu'elle puisse faire bénéficier son hôte de ses propriétés biocompatibles. L'HA peut également être déposée sous forme de films minces par projection plasma à la surface d'implants. Elle favorise ainsi leur intégration dans leur milieu d'arrivée.

Les méthodes de traitements thermiques sont très largement utilisées. En faisant varier les paramètres de synthèses de phases CaP comme la température, des compositions finales en phases HA et β -TCP peuvent être contrôlées (voir figure 3). Les applications recherchées sont le contrôle de la dissolution de la structure et les meilleures croissances osseuses possibles (Daculsi et al., 2003).

Pour la suite de notre étude, nous allons nous concentrer sur les trois techniques de traitement de surface utilisées lors de cette thèse qui sont le bombardement électronique par canon à électron, l'irradiation Ultraviolet par une lampe UV et le traitement par plasma froid sous une atmosphère d'hélium.

Les traitements de surfaces sont employés principalement pour 3 actions : 1) Traiter une surface d'un matériau pour observer sa réponse ou permettre l'ajout d'un autre composant. 2) Traiter une surface d'un matériau après l'ajout d'un composant pour étudier sa réponse. 3) Combiner les points 1) et 2) successivement. Ces actions sont donc définies comme : 1) une étape de pré-traitement, 2) une étape de post-traitement et 3) une combinaison de pré- et post-traitement sur les surfaces.

Après de brèves présentations d'utilisations sur d'autres matériaux, nous nous intéresserons plus spécifiquement à leur application afin d'apporter des modifications sur de l'HA. Nous allons donc regrouper les travaux de recherche existants autour de ces trois techniques en se focalisant sur leur utilisation avec l'HA s'ils existent.

a) Traitement par plasma

Il est abordé ici un rapide aperçu des applications que peuvent avoir les traitements de surface par plasma. Il est ensuite question des travaux qui concernent directement l'application de plasma froids à l'HA.

Afin de jouer sur les caractères hydrophiles ou hydrophobes de surfaces des matériaux, les traitement plasmas sont souvent utilisés. Chacun des deux caractères de surface va conduire à l'utilisation du matériau dans un domaine différent.

Une surface hydrophobe ou superhydrophobe va permettre d'obtenir différentes propriétés de surface qui vont cibler différents domaines d'applications. Sur ces

surfaces, l'eau minimise les points de contact et va donc chercher à s'en séparer, emportant avec elle les particules légères en surface induisant un phénomène d'auto nettoyage (Gould, 2003). Cette réduction d'affinité avec l'eau peut être un avantage et améliorer des propriétés de résistance au gel (Khedir et al., 2017) ou à la formation de buée en favorisant l'évaporation des petites gouttelettes d'eau (Shang and Zhou, 2016). Des phénomènes de corrosions en milieu aqueux sur des métaux peuvent être réduits (Ma et al., 2014) ou encore la friction entre le matériau et l'eau (Samaha et al., 2012).

Cela donnant lieu à un large domaine d'application comme dans l'industrie automobile, maritime ou du textile.

Comme dis précédemment, les traitements de surfaces sont employés principalement pour 3 actions : 1) le pré-traitement de surface, 2) le post-traitement de surface et 3) la combinaison des deux. Dans la réalisation d'une surface hydrophobe ou superhydrophobe, les traitements plasma sont employés de ces trois manières afin de s'adapter aux matériaux ou de permettre l'association de ces derniers.

Le pré-traitement de surface à l'aide d'un plasma sert à activer la surface en la rendant hydrophile. Cela va conduire à augmenter son affinité et permettre le dépôt d'une couche hydrophobe. Comme exemple, (Yamamoto et al., 2004) utilisent ce principe pour activer une surface de verre de silicate en diminuant son angle de contact initial de 45° à une valeur de 4° . Cela leur permet par la suite d'y déposer une solution hydrophobe qui formera un revêtement hydrophobe avec une valeur d'angle de contact de 108° .

Le post-traitement de surface par un plasma est généralement utilisé sur un matériau recouvert par un autre. Dans le cas d'un substrat de polymères préalablement recouvert d'une couche d'un autre matériau, on peut trouver par exemple le polyéthylène téréphtalate (PET) ou le Polyméthacrylate de méthyle (PMMA) qui ont été préalablement recouverts d'une fine couche d'huile de silicone. Après le traitement plasma, l'augmentation de l'hydrophobicité des surfaces est vérifiée par les mesures de valeurs d'angles de goutte qui rapportent des valeurs passant de 74° à 99° pour le PET et de 57° à 98° pour le PMMA (Niu et al., 2012). Sur un substrat solide de bois de pin, un traitement plasma est utilisé pour transformer un dépôt préalable d'une huile de paraffine en un solide dont la surface hydrophobe atteint des valeurs d'angles de 106° (Manolache et al., 2008).

Le pré- et post-traitement par plasma donnant tous deux de bon résultats, l'idée de les cumuler reste censée et des travaux sont donc disponibles. Une première étape de traitement plasma sur du verre nettoie et active sa surface. Il permet de favoriser le dépôt d'un film d'huile de silicone en surface. A nouveau, un traitement plasma est appliqué pour obtenir une surface superhydrophobe avec un angle mesuré de 120° (Fang et al., 2004).

Comme expliqué précédemment avec les propriétés biocompatibles de l'HA, une application dans le domaine du biomédical favorise l'utilisation de surfaces hydrophiles. Ce type de traitement est utilisé sur les métaux et alliages pour augmenter leur hydrophilie de surface et permet par la même occasion de réaliser un nettoyage. L'interaction des charges du plasma avec les contaminants conduit à leur retrait de la surface. Une étude menée sur un alliage d'aluminium (Al2024) montre les effets bénéfiques de ce type de traitement en précisant que le temps de traitement joue un rôle important (Sorrentino and Carrino, 2009). En partant d'une valeur initiale de 48° , plus le temps de traitement est augmenté, plus les valeurs vont diminuer. Elles seront de 35° , 32° , 31° , 23° et 17° pour des temps de traitement de 30, 75, 120, 300 et 600 secondes respectivement. Ces traitements ont été réalisés sous air.

Si l'on s'intéresse aux applications qui touche l'HA, celle-ci est communément utilisée comme substrat où l'on a greffé un polymère en surface ou bien ajouté à un autre composant pour former un composite avec un certain pourcentage de HA.

(Laput et al., 2019) ont utilisé un plasma froid d'argon comme traitement de surface sur un composite d'acide polylactique et d'hydroxyapatite PLA/HA d'un rapport 70/30. Après le traitement, une augmentation de l'hydrophilie de surface est observée avec une diminution de valeur d'angle de 65° à 27° .

En se focalisant maintenant sur des applications directement sur de l'HA, de multiples traitements avec des sources plasmas sont disponible comme (Koban et al., 2011) qui utilisent un jet de plasma (plasma jet) pour comparer l'amélioration de mouillabilité de surface sur de l'HA mais également de la dentine humaine et de l'ivoire de mammoth. Les traitements de surface par plasma froid sont conduits pour chercher à ne pas obtenir de modifications chimiques des surfaces après traitements. C'est une des caractéristiques de ce type de plasma qui entre en jeu et qui le dénomine comme « froid ». L'augmentation de température dans la zone de traitement est largement inférieure par rapport à des traitements plasmas généraux, permettant de réduire l'impact chimique sur les surfaces traitées (chap Chapitre II:D.3, p55)

(Rakngarm Nimkerdphol et al., 2014) pulvérisent sur un substrat métallique de l'HA à l'aide d'un procédé de projection plasma. Le substrat (titane) est prévu pour jouer le rôle d'un implant. Une amélioration de sa biocompatibilité est obtenue par le recouvrement de sa surface avec une couche d'HA.

Des études sont également menées sur le traitement par plasma de dépôts d'HA en surface de substrats. Cela donne lieu à une accumulation d'effets bénéfiques toujours dans l'optique d'obtenir les meilleures performances de biocompatibilité. La biocompatibilité d'un implant métallique est améliorée par le dépôt en surface d'une couche biocompatible (HA), qui est elle-même améliorée par un traitement plasma (Tan et al., 2012). Une forte hydrophilie de surface ($< 5^\circ$) est obtenue sur le dépôt d'HA après réalisation du traitement plasma qui favorise l'adhésion et la différenciation de cellules spécifiques par rapport aux dépôts non traités.

Pour des applications directement sur un matériau d'HA, (Lee et al., 2011) ont travaillé sur une céramique d'HA qui possède une porosité de surface interconnectée. Cette porosité permet au matériau d'accroître ses propriétés d'ostéointégration après implantation (Yoshikawa et al., 2009). Les auteurs ont appliqué sur cette céramique un traitement plasma afin d'obtenir sur les échantillons traités de meilleurs résultats d'ostéointégration par augmentation de l'hydrophilie de surface. Une affinité plus grande avec l'eau a pu être démontrée par l'observation de la flottaison des échantillons non traités et l'immersion totale de ceux traités. Dans une de leur étude plus récente, ils ont pu avancer, à l'aide d'expérimentations in vivo et in vitro, que l'application de leur traitement sur ces céramiques poreuses améliore leur performance en tant que substitut osseux (Moriguchi et al., 2018).

Dans ces études, le traitement plasma est réalisé dans un tube cylindrique en Quartz de 12 cm de long avec un diamètre de 2 cm. Une électrode en cuivre placée sous le tube sur la paroi extérieure joue le rôle de cathode, une tige en métal au centre de ce cylindre joue quant à lui le rôle de l'anode, permettant la formation d'un plasma dans toute l'enceinte. Les milieux gazeux choisis sont une atmosphère d'hélium ou un mélange hélium/oxygène (dans un rapport 5 :1). De meilleurs résultats sont obtenus pour le mélange de gaz après 5 minutes de traitement. Cependant, les auteurs ont rapporté une augmentation de la concentration en atomes d'oxygène en surface des matériaux traités. Ce même phénomène est observé pour des matériaux de types polymères (Massines and Gouda, 1998). La présence d'oxygène durant le traitement plasma conduirait donc à une modification chimique de la surface.

Le dispositif utilisé lors de cette thèse comprendra une cathode ainsi qu'une anode aux dimensions des échantillons afin de permettre la focalisation du plasma uniquement en surface des échantillons. Cette configuration peut permettre de réduire les temps de traitements en maximisant l'impact du traitement sur une zone ciblée. En ce qui concerne le milieu gazeux, le choix d'une atmosphère d'hélium est privilégiée. Ceci afin de maximiser les chances de ne pas modifier chimiquement la surface des échantillons traités par l'utilisation d'un gaz rare.

b) Irradiation UV

Comme pour le traitement de surface par plasma, un aperçu des différentes applications de traitements UV sur des matériaux et plus précisément sur l'HA est exposé.

Les traitements par irradiation Ultraviolet (UV) sont couramment utilisés pour la décontamination de surface ou des eaux usées. A l'inverse des méthodes de traitements chimiques, l'irradiation UV désactive par un processus physique les bactéries en présences. L'acide désoxyribonucléique (ADN) cellulaire de ces dernières absorbe les hauts niveaux d'énergie des ondes courtes de la lumière. Ce qui colle parfaitement aux ondes ultraviolettes qui possèdent des niveaux d'énergies élevées pour des longueurs d'ondes inférieures à 400 nm. Les microorganismes polluants ne sont plus capables de se multiplier et perdent donc leur activité d'infection. Son efficacité sur nombre de virus et bactéries a fait l'objet d'études approfondies (Chang et al., 2013; Ou et al., 2012) .

En milieu aquatique, le rayonnement UV est utilisé pour lutter contre la prolifération de bactéries (Chen et al., 2012) ou bien à l'élimination des organismes micropolluants pour le traitement des eaux potables (Bichai et al., 2009). Dans le domaine médical, ces irradiations servent à stériliser les outils chirurgicaux en les débarrassant de bactéries contaminantes (Menetrez et al., 2010).

Sur différents matériaux, les traitements UV sont menés afin d'apporter un contrôle sur leur mouillabilité de surface. Ainsi la littérature présente des résultats sur des polymères, des métaux et alliages de métaux.

(Hozumi et al., 2004) modulent la mouillabilité de surface du polymère polyméthacrylate de méthyle (PMMA) avec deux lampes UV irradiant à 126 nm et 172 nm. Les traitements se font sous vide ($2,10^{-4}$ Pa) et sous différentes augmentations de pressions (10 Pa, 10^3 et 10^5 Pa) avec des temps d'exposition de 5 à 60 minutes. Après un temps de 30 minutes, les valeurs d'angles atteignent leur limite de modification.

Avec une valeur d'angle initiale de 80° pour le PMMA sans traitement, une augmentation de l'hydrophobie est obtenue pour les irradiations sous vide avec des valeurs de 101° et 99° pour les longueurs d'ondes de lampe de 126 et 172 nm respectivement. Pour toutes les autres irradiations en surpression, le caractère hydrophile de la surface est amélioré. Les plus forts résultats obtenus sont la lampe à 172 nm qui conduit dans tous les cas de figures à une mouillabilité plus importante (24° à 10^5 Pa).

(Yin et al., 2013) ont quant à eux étudié ce type de traitement sur du polyester et du coton préalablement imprégné dans une solution de gel F/TiO₂, induisant des valeurs initiales d'angles de goutte de 136° et 142° respectivement. Les irradiations sous UV (253,7 nm) sont alors maintenues jusqu'à l'obtention d'une valeur d'angle de goutte de 0° . Cela prendra 24h pour les échantillons de coton et 168h pour le polyester, indiquant une influence de la morphologie des fibres sur le traitement.

Ces traitements permettent également la variation de la mouillabilité sur les surfaces métalliques. Des films de TiO₂ révèlent une mouillabilité modulable par alternance de temps de séjour sous lampe UV et lampe dans le domaine du visible (430 nm) (Miyachi et al., 2002). Trois échantillons différenciés par leur rugosité de surface montrent des résultats réversibles bien que leurs valeurs d'angles de contact soient différentes. Elles sont de l'ordre de 59° , 41° et 25° pour une rugosité croissante à l'état initial. Après deux cycles successifs de 50 heures sous UV puis 50 heures sous une lumière visible, ces valeurs sont conservées. Quant aux irradiations UV, elles auront augmenté la mouillabilité de chaque surface avec des valeurs inférieures à 5° et une mouillabilité parfaite pour l'échantillon le plus rugueux (0°). Des analyses de surfaces permettent aux auteurs de conclure que l'irradiation UV conduit à la dissociation de l'eau absorbée en surface des alliages, rendant la surface beaucoup plus mouillable. En comparaison, une autre étude sur des films de TiO₂ observe le même phénomène d'augmentation de la mouillabilité de surface après des temps d'irradiation sous UV (Lala et al., 2016). Les échantillons sont cette fois-ci différenciés par leur structure plus ou moins cristallisée induit par une étape de recuit à des températures différentes. Ils obtiennent après 72h d'irradiation UV des surfaces hydrophiles avec une meilleure observation pour l'échantillon le mieux cristallisé qui passe de 51° à une surface très hydrophile montrant un angle de contact de 15° .

Les traitements UV sont avantageux pour moduler la mouillabilité de surface de différents matériaux. Les résultats d'applications de traitements UV sur l'HA et ses phases biologiques que sont la dentine et l'os vont également dans ce sens.

Des pastilles d'HA frittées ont été irradiées sous une lampe de mercure émettant à des longueurs d'ondes de 185 et 254 nm pendant 15 minutes (Kaneko et al., 2020). Aucune indication sur une valeur de dose d'irradiation n'est indiquée sur leur étude. Les mesures d'angles de contact avant irradiation donnent lieu à des valeurs de 54°. Après les 15 minutes sous la source d'irradiation, ses surfaces deviennent hydrophiles avec des valeurs plus faibles ayant diminué à 18°. Les surfaces montrent rapidement une inversion de ce phénomène une heure après le traitement et un retour à l'état initial 6 heures après. Des pièces pour une implantation chez des rats ont subi les mêmes traitements et ont montré une croissance plus rapide lors du démarrage de la régénération osseuse.

Une autre augmentation du caractère hydrophile de la surface est également obtenu sur des pastilles d'HA par (Yasuda et al., 2017). Leur irradiation combine l'irradiation UV avec une atmosphère d'ozone O₃. L'ozone est formée durant l'irradiation UV par excitation de molécules d'oxygène de l'air conduisant à la formation de radicaux O* qui eux-mêmes réagissent avec les molécules d'O₂ pour former O₃. Sans plus de détails sur leurs échantillons, ils mesurent une surface initiale très hydrophobe dont la valeur mesurée d'angle de goutte est de 115°. Cette valeur chute à 80° après une minute d'irradiation et atteint sa limite au bout de 5 minutes malgré des tests jusqu'à 2 heures. Encore une fois, une surface hydrophile est obtenue (10°). En parallèle à cela, la surface de plusieurs pastilles a été modifiée avec une solution d'acide phosphorique H₃PO₄ à 30%. Le traitement UV/O₃ s'est montré concluant pour atténuer son impact sur les pastilles d'HA.

Les effets induit par un autre type de traitement de surface, le bombardement électronique dont nous parlerons juste après ont permis aux auteurs d'étudier la capacité de traitements UV à les compenser. Ainsi les deux études de Aronov et al. (2006 et 2007) utilisent une lampe UV non filtrée (185–2000 nm) avec des temps d'irradiation de 5 minutes. Sans donner plus de détails ni de valeurs de mesures, ils nous indiquent que ces conditions leurs ont permis un retour à l'état initial de mouillabilité de leur surface de 18°.

Enfin, une augmentation de l'hydrophile est aussi obtenue sur de la dentine. Les auteurs ont utilisé une lampe au Xénon de longueur d'onde 172 nm et un temps

d'exposition de 180 secondes pour induire une modification de mouillabilité (Muraio et al., 2018). La dentine non irradiée possède une valeur d'angle de goutte de $82 \pm 4^\circ$ qui diminue jusqu'à une valeur de $23 \pm 6^\circ$ après un traitement de 180 secondes. (Tiznado-Orozco et al., 2015) ont travaillé en collaboration avec l'équipe que j'ai intégrée pour irradier sous UV des surfaces de dentine et d'émail. Il a été montré un impact du traitement sur ces deux surfaces, qui modifie momentanément l'hydrophilie de surface. Après une répétition de mesures de mouillabilité dans le temps, ils remarquent que les valeurs des surfaces traitées sont strictement inférieures à celles des surfaces non traitées dans le temps.

Les traitements UV lors de cette thèse sont réalisés à l'aide du même dispositif industriel que la dernière publication citée. Il est muni d'une lampe à mercure dont le maximum d'émission se fait à une longueur d'onde de 370 nm. La forte puissance de cette lampe rend possible la modification de la réponse de la surface avec des temps de séjours sous la source UV de l'ordre de quelques secondes. Cela permettrait de réduire considérablement les temps de traitements.

c) Irradiation électronique

La littérature sur des applications du traitement de surface par bombardement électronique appliqué à de l'HA est la plus fournie. Nous ne nous attarderons donc pas sur les autres matériaux. Certains des auteurs cités par la suite ne se contentent d'ailleurs pas d'appliquer leurs procédés sur de l'HA mais l'étendent à d'autres matériaux polymères (Adler-Abramovich et al., 2009) ou métaux (Aronov et al., 2007c; Sabayev et al., 2008).

En parallèle des irradiation électroniques à l'aide de canons à électrons, la polarisation de surface par application d'un champ électrique aux matériaux constitue une manière efficace de moduler sa réponse. L'application de cette technique apparaît comme étant facile à réaliser, en témoigne une littérature riche sur le sujet. Ainsi, il a été démontré par de nombreux auteurs des applications d'amélioration de réactivité biologique (Nakamura et al., 2001), d'accroissement de la bioactivité (Nakamura et al., 2002) et d'influence sur l'activité de cellules (Cartmell et al., 2014; Nakamura et al., 2008). La grande majorité de ces travaux rapportent une hydrophilisation des surfaces plus ou moins importantes en fonction du temps d'exposition ou de l'intensité du traitement.

En ce qui concerne l'irradiation électronique, elle est aussi un bon moyen d'induire une modification de la réponse des surfaces. Quelques travaux de recherches ont montré l'impact de ces traitements sur des apatites biologiques. Ils permettraient de faciliter la

coagulation du sang (Kim et al., 2015) ou encore de réduire la dureté des os sans influencer leur élasticité (Kaminski et al., 2012).

(Nishi et al., 1997) ont étudié l'impact d'un tel traitement sur des échantillons d'HA. Des doses fortes entre 100 et 200 Mrad (ancienne unité de dose soit entre 1 000 et 2 000 kGy) sont appliquées. La puissance de la machine ne rendant pas possible ces doses en une fois, plusieurs passages sous la source d'irradiation sont donc administrés aux échantillons. Ils utilisent les valeurs d'angles de goutte non fournies pour déterminer les différentes énergies d'adhésion en fonction des doses reçues par les échantillons. Cela conduit à leur conclusion que les irradiations augmentent l'hydrophilie des échantillons et que ce caractère est perfectionné avec des doses plus élevées. Ils notent également une modification de la constante du réseau cristallin de l'HA par DRX induit par les irradiations.

L'équipe qui présente le plus de travaux appliqués à l'HA est composé de D. Aronov et G. Rosenman., tous deux chercheurs à l'Université de Tel Aviv en Israël. Ils réalisent leur irradiation à l'aide d'un canon à électron EFG-7 de l'entreprise Américaine Kimball Physics dans des conditions de vide (10^{-7} Torr soit $1,3 \cdot 10^5$ Pa). Les matériaux sont placés sous cette source d'électrons afin d'être irradiés pendant des temps variables allant jusqu'à 1 heure. Leur connaissance précise du dispositif leur permet d'aborder le traitement comme l'application d'un courant avec une certaine densité d'électrons sur le matériau. Ils caractérisent donc leur faisceau d'électrons par deux paramètres, la fluence et le taux de fluence. Le taux de fluence est le courant appliqué par unité de surface en $A \cdot cm^{-2}$ qui dépend donc du temps d'irradiation. La fluence est la densité de charges par unité de surface exprimé en Coulomb par cm^{-2} appliqué par le canon pendant un temps donné. Leurs valeurs de traitements sont très faibles avec un taux de fluence d'une centaine de nanoampères par cm^2 et une fluence jusqu'à $300 \mu C$ par cm^2 . Un dernier paramètre important est l'énergie d'incidence des électrons qui est directement liée à la pénétration des électrons en profondeur du matériau. Dans leur cas cette valeur, fixée à 100 eV, est très faible et conduit à une profondeur de pénétration de quelques nanomètres seulement.

(Aronov et al., 2006) ont appliqué le traitement expliqué ci-dessus pour moduler la mouillabilité de surface de pastilles d'HA. En partant d'une surface hydrophile comportant une valeur d'angle initiale de 10° , ils ont montré la possibilité de tendre vers une surface de plus en plus hydrophobe par augmentation du temps d'irradiation (donc de la fluence). Ainsi, après 50 min sous irradiation, une surface très hydrophobe

(100°) est obtenue. En ajustant le temps d'irradiation, ils peuvent choisir de tendre vers une mouillabilité désirée comme ils nous le démontrent avec une valeur d'angle de 56° observée pour un temps intermédiaire de 20 minutes. Même après les temps les plus longs, aucun dommage sur la surface ou la chimie de surface n'a été observé de leur part. Une telle modulation a trouvé un intérêt dans la sélectivité des différentes surfaces par rapport à deux molécules, l'ADN et l'albumine de sérum bovin (ASB) qui sont deux molécules biologiques qui favorisent des interactions avec des surfaces hydrophiles et hydrophobes respectivement. Les surfaces de pastilles d'HA corroborent ces interactions avec un meilleur maintien de l'ADN après un temps court d'irradiation et du ASB après un temps long d'irradiation.

(Aronov et al., 2007b) ont travaillé dans les mêmes conditions et précisent que le principal facteur qui permet d'obtenir une augmentation de l'hydrophobie de surface est leur faible énergie d'incidence. Cela leur permet d'induire une modification de la réponse sur une très faible épaisseur des échantillons, amenant une réponse à l'opposé de la majorité des recherches.

En s'appuyant sur leurs travaux, des auteurs ont obtenu des résultats similaires sur des films d'HA à l'aide d'un microscope électronique à balayage pour des énergies d'incidences plus élevées (20 keV). Cependant, ils n'ont pas irradié la surface complète mais on crée des microdomaines sur celle-ci (Aronov et al., 2007b, 2008). Sur une localisation du film de 4 mm², des zones d'irradiations d'environ 7,5 µm de diamètres sont réalisées. Cette alternance de zones leur permet d'obtenir une augmentation de l'hydrophobie de surface en fonction de la dose appliquée. La mouillabilité est modulée à une moins grande échelle avec des valeurs initiales d'angles des pastilles à 53° augmentées à une valeur max de 93°.

Enfin, de précédents travaux menés sur de la dentine et de l'émail dentaire également cités dans les traitements UV ont étudié l'impact du dispositif d'irradiation utilisé durant cette thèse (Tiznado-Orozco et al., 2015). Pour une tension d'accélération de 180 kV, il a été appliqué de faibles doses (16, 26 et 132 kGy) sur les surfaces pour en étudier l'impact. Un suivi du mouillage de la surface a été conduit par répétition de mesures d'angles de contact au cours du temps. Il en ressort une augmentation du caractère hydrophobe des surfaces. Celui-ci est plus marqué pour l'émail qui présente une augmentation de valeurs plus importante pour le maximum de dose en EB de 30°.

Un point important non mentionné par nombres d'auteurs est leur protocole de préparation de surface avant irradiation. Il n'est mentionné d'aucune préparation de la

surface ou de protocole de nettoyage pour certains. Ces derniers peuvent grandement impacter notre compréhension des phénomènes et plus particulièrement pour (Aronov et al., 2006) qui débutent sur une surface d'HA très hydrophile (10°).

La modification de surface d'HA est souvent liée à l'association de celle-ci avec un autre matériau comme des polymères ou des métaux. Le but visé est l'amélioration des propriétés de l'HA ou d'une propriété spécifique qui aura une application ciblée. Les traitements de surfaces sont une autre alternative qui permet de jouer sur la réponse de la surface sans ajout d'éléments chimiques supplémentaires. La littérature nous informe sur les nombreux paramètres pouvant influencer l'impact de ces traitements comme la diversité du gaz sous lequel les traitements plasma sont réalisés, les doses d'irradiation très variées subies par les échantillons qui sont fonction du temps d'exposition ou encore l'état initial des surfaces avant toute modification.

3. Impact du traitement sur la surface

Les différents traitements cités précédemment orientés en direction d'une surface vont conduire à des interactions rayonnement/matière. Ces interactions auront un impact différent en fonction de la nature des éléments qui compose le faisceau incident avec les atomes de la matière traitée. Il est donc nécessaire de connaître ces interactions pour en déterminer leur impact.

a) Interaction électrons-matière

Pour le bombardement électronique et le traitement par plasma froid, les surfaces des échantillons sont placées sous un faisceau d'électrons. L'échantillon est alors le siège d'interactions entre les électrons incidents et les atomes de l'échantillon. On peut distinguer deux types : les interactions élastiques et inélastiques qui donnent lieu à différents types d'émission.

(1) Interaction élastique

Dans le cas des interactions élastiques, on considère que la particule incidente conserve son énergie cinétique. Ainsi, les électrons sont déviés de leurs trajectoires initiales du fait des interactions coulombiennes avec le noyau des atomes de l'échantillon. Ce type d'interaction est responsable des phénomènes de diffraction électronique. De plus, ces interactions auront pour effet d'élargir de faire ressortir les électrons incidents de l'échantillon, on parlera alors d'électrons rétrodiffusés. Ceux-ci

non pas d'interaction directe avec la matière mais leur trajectoire est déviée par cette dernière.

(2) Interaction inélastique

Les interactions inélastiques sont caractérisées par un échange énergétique entre la particule incidente (qui va perdre une partie ou toute son énergie cinétique) et la particule soumise au bombardement. Les électrons incidents interagissent avec les nuages électroniques des atomes de l'échantillon analysé et peuvent :

- Exciter globalement les niveaux de valence et de conduction de l'atome, ce qui va entraîner la création de plasmons et induire une perte énergétique pour les électrons incidents de quelques eV.
- Exciter les oscillations du réseau atomique qui entraîne une augmentation de la température de l'échantillon.
- Arracher au solide des électrons faiblement liés (électrons présents sur la couche de valence) et créer ce que l'on nomme une émission d'électrons secondaires dont l'énergie est comprise entre 0 et 50 eV.
- Créer une lacune au sein d'un des niveaux énergétiques profonds de l'atome en arrachant un électron du nuage électronique.

La création de lacunes dans la structure électronique de l'atome est suivie d'une réorganisation des électrons de cet atome se traduisant par une transition radiative ou non radiative. L'émission radiative consiste en l'émission d'un photon X dont l'énergie correspond à la différence entre le niveau énergétique de la lacune et celui de l'électron la comblant. Les photons X émis sont caractéristiques des atomes qui ont subi une interaction inélastique avec les électrons incidents. On parlera alors de raies ou plus généralement de spectres d'émission X caractéristiques.

Les transitions non radiatives peuvent se traduire par l'émission d'un électron des couches externes de l'atome (électron Auger) dont l'énergie est caractéristique de la structure de l'atome ionisé. C'est un processus complémentaire de l'émission X dont le rendement est égale à 1 moins le rendement de l'émission X.

Ces émissions nous donnent des informations sur l'échantillon en lui-même puisqu'elles sont impactées directement par l'échantillon étudié et nombre de techniques de caractérisations des matériaux utilisent ses phénomènes pour la détermination d'information sur l'échantillon étudié. Les atomes passent successivement d'un état de ionisation avec la création d'une lacune, d'excitation

avec la réorganisation des électrons du nuage électronique de l'élément ionisé puis d'un retour à un état stable avec libération du surplus d'énergie par libération d'énergie (photon X ou électron Auger).

(3) Impact des traitements de surface

Les différentes réponses aux interactions que l'on vient de citer sont grandement impactées par la tension d'accélération du faisceau incident. Cette tension est appliquée pour attribuer une direction ainsi qu'une vitesse aux électrons précédemment créés afin de les orienter dans la direction voulue (ici la surface de l'échantillon). Plus cette tension est importante, plus les électrons atteignent la surface avec une grande vitesse. Ceci conduit à une pénétration plus en profondeur du matériau. En augmentant la tension, on augmente également l'épaisseur de surface impactée. Une vitesse plus importante induit des chocs plus violents et donc de possibles dommages à l'échantillon.

(Eddisford et al., 2008) rapportent des résultats de dommages sur de la poudre d'HA par des irradiations prolongées sous électrons. Ces dommages se traduisent par la perte de phosphore et d'oxygène, induisant une amorphisation de la surface qui aboutit à la formation de CaO. Cet effet d'amorphisation est fonction de la tension d'accélération des électrons ainsi que du temps d'irradiation. (Aronov et al., 2008) expliquent que leur irradiation de surface par des électrons avec une faible tension d'accélération leur permet la formation de charges électrons/lacunes. Celles-ci se retrouvent piégées au voisinage de la surface du fait de leur faible vitesse et ne sont pas évacuées par le matériau. Une faible profondeur d'irradiation (ici 20 Å) concentre donc les charges dans une zone très faible en surface du matériau. Cette concentration de charges dans une zone restreinte mène à leur modification de surface qui se distingue des autres. Ils rapportent également qu'aucune modification topographique ou de la phase du matériau n'est observée.

Cependant, aucune étude sur la durée de leur effet n'est disponible. La zone impactée par ces modifications est faible. Les atomes du matériau qui ont subi le faisceau et qui se retrouvent dans un état excité vont rapidement chercher le retour à un état d'équilibre (désexcitation). Ce retour à l'équilibre sera facilité par le fait qu'ils ne sont pas en profondeur de la maille du matériau, la libération d'électrons ou d'énergies sous forme de photons sera facilitée par leur présence en surface. Les interactions avec d'autres électrons de l'échantillon seront faibles en comparaison d'un atome situé en son centre. Si l'on procède à une augmentation de la tension d'accélération, les

électrons pénétreront plus en profondeur du matériau, la zone impactée par les électrons incidents sera donc de plus en plus grande. La libération des énergies pour un retour à un état non excité de tous les éléments sera donc plus longue, favorisant des effets plus durables dans le temps.

D'autres études montrent également des effets sur l'HA qui ne sont pas réversibles comme par exemple la formation de Chaux (CaO) sur les surfaces irradiées (Brès et al., 1991; Meldrum et al., 1997) ou encore une modification du rapport Ca/P des céramiques d'HA traitées (Eddisford et al., 2008).

b) Affinité entre les espèces chimiques

Comme vu lors de l'étude du traitement plasma, le choix du gaz d'activation peut être un paramètre crucial. Un mélange hélium/oxygène peut se révéler plus bénéfique qu'un traitement sous atmosphère d'hélium par incorporation d'oxygène en surface du matériau traité (Moriguchi et al., 2018). (Santos et al., 2020) ont travaillé sur l'impact des proportions en gaz lors de ces traitements avec de l'azote, du dihydrogène et de l'oxygène. En fixant H₂ à 50 du flux de gaz, la variation intervient sur O₂ et N₂. Ils montrent que toutes les proportions en gaz impactent la mouillabilité d'un alliage Alumine/Oxyde de Zirconium (Al₂O₃/ ZrO₂). Cependant, ils montrent également que la composition du gaz va avoir plus d'influence sur une phase qu'une autre en fonction de son affinité avec celle-ci. Un plus fort pourcentage en N₂ amenant plus de changements chimiques sur la phase de ZrO₂.

Cette affinité peut engendrer des modifications morphologiques et de cristallinité comme l'ont observé (Girija et al., 2008) après irradiation de pastilles d'HA par des ions oxygènes. Une diminution de la cristallinité des échantillons irradiés a été observée par élargissement de pics de plans cristallins par diffraction des rayons X. Un changement de morphologie a aussi été observé cette fois à l'aide d'un microscope électronique à balayage. Le traitement ayant conduit à un aplatissement des grains du matériau.

La nature du gaz joue un rôle sur la réponse du matériau (Koban et al., 2011) ont étudié l'impact de trois compositions en gaz de leur traitement plasma. Sur des temps d'exposition de 120 secondes au maximum, les trois expériences mènent aux mêmes résultats avec une très forte hydrophilie de surface (angle mesuré proche de 0°). Cependant, cette valeur est obtenue dès 10 secondes d'exposition avec un mélange d'argon avec 1% d'oxygène par rapport à un pourcentage plus faible d'oxygène (0,2%) et de l'argon pur.

Lors des traitements de surface par bombardement électronique, l'accélération et la focalisation des électrons en direction de la surface à traiter peuvent conduire à leur interaction avec les éléments rencontrés durant leur trajet. Les interactions élastiques et inélastiques citées précédemment peuvent conduire à la formation d'espèces excitées qui vont être entraînées en surface des échantillons. La surface d'HA étant très réactive, une incorporation d'éléments externes à la phase cristalline peut avoir lieu (Dorozhkin and Epple, 2002). La formation d'ozone O_3 peut être engendrée durant les irradiations électroniques sous air par excitation de l'oxygène par des électrons. Ce qui conduit à la formation de radicaux O^* puis à O_3 (Yasuda et al., 2017).

La caractérisation des surfaces de matériaux avec les paramètres de rugosité, de mouillabilité et de comportement cellulaire implique que ces trois paramètres sont liés les uns aux autres. Les modèles théoriques qui relient la mouillabilité de surface à sa rugosité ne sont pas applicables pour toutes les surfaces et doivent donc être adaptés à chacun. La modification de morphologie, le moyen de stockage des surfaces et le mode de nettoyage sont autant de paramètres dont dépend la mouillabilité.

Le but de ces modifications de surface dans le domaine biomédical est d'aboutir à une biocompatibilité et une ostéoconductivité améliorées. On entend par là une amélioration des affinités entre la surface et les molécules présentes dans les fluides humains ou animaux.

L'impact des 3 traitements présentés ci-dessus est répertorié dans la littérature comme des méthodes de modifications de réponses des surfaces et ce sur de nombreux matériaux (polymères, métaux, ...) mais également pour le matériau qui nous intéresse, l'HA. Elle est souvent associée à un autre matériau afin d'en améliorer les propriétés ou que ce matériau améliore une propriété spécifique de l'HA. On peut observer dans ces études la grande diversité des paramètres dont le gaz de génération du plasma qui peut être de l'argon, de l'oxygène, de l'hélium, de l'azote ou encore un mélange de plusieurs d'entre eux. La dose d'irradiation qui est impacté par le temps de séjour des échantillons sous la source est également un paramètre qui peut être ajusté d'une minute à plusieurs heures. Ou encore la tension d'accélération des électrons qui va fortement impacter la profondeur de pénétration des électrons dans l'échantillon, induisant des réponses et différentes modifications possibles.

F. Ciblage de l'application de ces traitements pour le domaine biomédical

Comme dit précédemment, aux vues de ses nombreux avantages de biocompatibilité (phases, structure, ...), l'HA est un candidat des plus favorables pour une application dans le domaine biomédical. Son affinité avec les cellules ostéoblastiques et une hydrophilie accrue de la surface obtenue après traitement (Choudhury, 2011; Lee et al., 2011) en font un très bon candidat pour une implantation directe dans le corps humain ou comme dépôt sur des zones critiques d'implants osseux. Afin de démontrer une amélioration des surfaces traitées sur le plan bactéricide, des études *in vitro* sont conduites. Une évaluation de la résistance à une infection bactérienne permet d'observer, dans des conditions physiologiques, le comportement du matériau et son évolution en fonction des modifications apportées. La gentamicine, une des molécules les plus efficaces pour le traitement de différentes infections bactériennes ("WHO Model Lists of Essential Medicines," 2019), est couramment utilisée pour ces comparaisons. Avant incorporation d'un implant dans son site d'insertion (corps humain ou mammifères), celui-ci est plongé dans une solution de gentamicine afin de l'en recouvrir (Lucas-Girot et al., 2005). Cette étape permet sa libération en continue autour de l'implant qui va favoriser son intégration en combattant la formation de zones d'infections.

(Taha et al., 2013) ont étudié l'effet d'un greffage de polymères en surface d'un dépôt d'HA sur un implant en titane. L'association de l'implant en titane, d'un dépôt d'HA et le greffage d'un polymère révèlent une toxicité nulle par rapport à l'association implant/dépôt. Les cellules ostéoblastiques peuvent donc rapidement conduire à la formation d'os et à une intégration de l'implant. La porosité de HA induit par la méthode de dépôt par plasma de cette étude augmente la capacité de stockage de gentamicine en surface de l'implant. La libération de gentamicine se fait alors durant des temps plus longs, rendant la périphérie de l'implant résistante aux infections plus longtemps. L'équipe qui me fournit l'HA utilisée durant ma thèse a déjà conduit des études similaires. Les résultats d'échantillons bruts sans préparation spécifique de surface sont comparés à des échantillons dont une porosité contrôlée a été attribuée (Chai et al., 2007). La porosité permet une meilleure absorption de molécules bioactives en surface des échantillons. Les surfaces des échantillons brutes voient leur effet antibactérien renforcé dans le temps grâce aux différents traitements plasma.

G. Objectifs de la thèse

L'objectif de cette thèse est de modifier la surface d'une céramique biocompatible d'hydroxyapatite et de déterminer si les différentes méthodes induisent des modifications chimiques ou structurales dans le matériau. L'utilisation de trois différentes techniques de traitements à savoir l'irradiation électronique, l'irradiation UV et le traitement par plasma froid est réalisée. Deux de ces techniques utilisent une machine industrielle et la dernière est un dispositif de laboratoire.

Le traitement par plasma froid et l'irradiation UV ont fait l'objet d'études expérimentales dans des conditions d'irradiations spécifiques lors de précédents travaux. Pour le premier, le dispositif a été conçu en laboratoire pour concentrer la formation du plasma froid en surface des échantillons. La totalité des électrons formés est donc focalisée sur le diamètre des échantillons. Cela permet de maximiser son impact et de réduire considérablement les temps de traitements. Pour le second, une machine industrielle est utilisée. Celle-ci possède une lampe à mercure dont le maximum d'émission se fait à une longueur d'onde de 370 nm. Grâce à la forte puissance de cette lampe, il est possible de modifier la réponse de la surface avec des temps de séjours sous la source UV de l'ordre de quelques secondes.

L'irradiation électronique est également conduite à l'aide d'une machine industrielle. Elle permet l'application de doses élevées (pouvant dépasser 1 000 kGy) pour des temps d'irradiations très rapide (1 seconde). Cela en fait une technique de modification de surface extrêmement rapide et facile à réaliser. Les conditions d'irradiations extrêmes de la machine sont étudiées pour permettre d'observer la modulation possible des modifications sur les surfaces ainsi qu'une évaluation de l'impact d'une atmosphère d'irradiation différente (air ambiant et azote).

Ces modifications de surfaces ont pour but d'améliorer leur réponse par rapport à un milieu physiologique par leur interaction avec les molécules présentes dans le corps humain. Ceci permettant d'améliorer la capacité du matériau à s'intégrer dans le milieu et conduire à son incorporation en réduisant les effets néfastes.

Une approche par le suivi de la mouillabilité de surfaces des échantillons est mis en place pour observer l'impact de ces différents traitements. Il nécessitera l'élaboration d'un protocole de préparation et de stockage des échantillons stricts afin d'obtenir un standard de répétabilité pour les pastilles vierges. Cela inclura une étude sur l'impact de la rugosité de surface sur ces mesures. Ce dernier sera directement comparé aux évolutions obtenues sur les échantillons traités.

Différentes techniques de caractérisations physico-chimiques des matériaux nous permettront d'avoir une bonne connaissance de notre matériau de départ. Ces mêmes techniques utilisées après traitement nous renseigneront sur de possibles impacts au niveau structural et morphologique des échantillons.

Aux vues des résultats obtenus dans les conditions étudiées, une technique de traitement s'avère plus impactante que les autres. Des études biologiques in vitro pour évaluer le potentiel antibactérien et une amélioration de la bioactivité des surfaces modifiées par ce traitement seront effectuées.

Chapitre II : Produits, matériels et méthodes

Chapitre II: Produits, matériels et méthodes

Ce chapitre présente l'élaboration, la mise en forme et les méthodes de préparations et de stockages des surfaces des céramiques d'HA utilisées tout au long de cette étude. La présentation et les protocoles des différentes techniques d'analyses physico-chimiques employées pour caractériser ces échantillons sont également donnés ainsi que les méthodes d'études in vitro employées.

A. Préparation des pastilles d'hydroxyapatite

L'élaboration des pastilles d'HA qui ont servi dans cette étude a été conduite par le Dr Jean-Christophe HORNEZ au Laboratoire de Matériaux et Procédés de Maubeuge qui est spécialisé dans la conception de céramiques. Ces céramiques ont pour but d'être utilisées dans le milieu biomédical.

1. Etape de préparation de la poudre d'HA

La poudre de phosphate de calcium soit hydroxyapatite a été préparée à partir d'un précurseur de Nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Brenntag, France) et d'un précurseur de Phosphate diammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) (Carlo Erba, France). La précipitation a été réalisée par voie aqueuse (Destainville et al., 2003; Raynaud et al., 2002) avec le contrôle des différents paramètres : température, pH de solution, agitation et temps. Pour la synthèse de la poudre d'hydroxyapatite (HAP), la température de la solution a été fixée à 50 °C et un pH de 8,0. Le rapport Ca/P est égal à 1,67 après un temps de vieillissement de 20 h. Le précipité est ensuite filtré dans un entonnoir Büchner et séché dans un four à 70 °C. La poudre obtenue est ensuite calcinée afin de diminuer la surface spécifique de 60 m²/g des grains pour permettre d'augmenter sa capacité de charge en tant que barbotine. La nouvelle surface spécifique est de 3 m²/g, mais la calcination pose un nouveau problème, les grains se sont agglomérés. Il faut donc à nouveau broyer les grains. Les broyages sont conduits par un broyeur à billes en solution pendant 48h. Les billes sont en polyéthylène à haute densité et la jarre en zircone stabilisée par l'yttrium afin de ne pas polluer HAP. La poudre est à nouveau filtrée, séchée pour atteindre sa surface spécifique adéquate de 6 m²/g.

2. Etape de préparation de la barbotine et mise en forme des pastilles

La barbotine est formée par addition d'eau et d'adjuvants à la poudre concentrée à 65 wt%. Une défloculation est obtenue en ajoutant un agent dispersant : le polyacrylate d'ammonium (Darvan C, R. T. Vanderbilt Co.) pour 1,5 % en masse de poudre d'HA. La mise en forme des pastilles se fait par voie aqueuse. C'est une technique qui permet une grande liberté de formes puisqu'il suffit de créer la forme du moule qui nous convient. La barbotine est coulée dans des moules en plâtres d'un diamètre de 15 mm et une hauteur de 5 mm. Après absorption de l'eau par capillarité, les pastilles sont démoulées et stockées dans l'attente de la dernière étape de fabrication.

L'élimination de l'eau par capillarité dans les moules en plâtre implique une déformation des pastilles qui ne comporte pas un diamètre de face identique. Celle du dessous épouse parfaitement le diamètre du moule. La forme finale des échantillons est donc une pastille de 15 mm de diamètre à sa base et 13 mm au sommet pour une épaisseur d'environ 5 mm.

3. Etape de frittage des pastilles

Les pastilles sont finalement frittées à 1250°C sous une atmosphère d'air. Une rampe de température de chauffage et de refroidissement de 5 °C/min est appliquée avec une stabilisation à 1250 °C pendant 3 h. Cette rampe de température très longue dans le temps permet d'éviter la formation de la phase β -TCP pouvant intervenir au-dessus de 800°C (Lala et al., 2016) par la réaction suivante :



Une densité de 98% est obtenue avec un peu de porosité fermée pour les pastilles.

B. Préparation des surfaces d'hydroxyapatite

1. Polissage

Comme vu précédemment, la rugosité peut avoir un impact sur les mesures d'angles de goutte. Différentes techniques de polissage ont donc été étudiées afin d'obtenir une rugosité la plus faible avec une homogénéité sur toute la surface. Le polissage a été réalisé manuellement à l'aide de polisseuses à disques Struers Rotopol-22 avec une rotation de disque de 300 rpm. Quatre méthodes ont été étudiées pour des disques de polissage #4000 :

- Un polissage « sans bouger » en restant au même endroit du disque de polissage.
- Un polissage « en cercle » en formant des cercles sur le disque de polissage.

- Un polissage « en huit » en formant un huit sur le disque de polissage.
- Un polissage « 4pts » en se plaçant aux quatre points cardinaux sur le disque de polissage pendant un même temps.

Une conclusion a été obtenue quant à l'utilité de ces techniques en corrélant les résultats de profilométrie et de mesures d'angles de goutte (Chap III A). Il en résulte qu'il n'est pas nécessaire de chercher une homogénéisation de la surface avec un mouvement quelconque sur le disque de polissage. Au contraire, cela conduit le plus souvent à des surfaces non planes. C'est pourquoi, le polissage de référence sera sans bouger.

La malformation des surfaces des pastilles obtenue par l'élimination de l'eau par capillarité dans les moules en plâtres (traitée par la suite à la figure 62) influence certainement les mesures de reproductibilité d'angles de goutte à différentes localisations sur la surface. Pour pallier ce problème, un polissage en diminuant progressivement la taille des grains est adopté. Un polissage grossier avec un disque #800 est fait pour aplanir la surface, puis deux polissages successifs avec des disques de #1200 et #4000 pour diminuer la rugosité de surface au maximum progressivement. Ce qui correspond à une diminution de tailles de grains de 200 μm , 15 μm et 4 μm respectivement.

2. Nettoyage et stockage

Le stockage des échantillons ainsi préparés a tout d'abord été fait dans une étuve sous vide à 80°C. Il a été convenu d'un problème de reproductibilité qui impliquait ce mode de stockage. Il a donc été remplacé par la suite par un stockage en dessiccateur sous vide, plus concluant qu'un stockage en immersion dans de l'eau distillée (Chap III B 4).

Le nettoyage des surfaces est réalisé par immersion dans une solution de tétrahydrofurane et passage dans un bain à ultrason pendant 15 minutes. Ce solvant a présenté les meilleurs résultats de reproductibilité pour les mesures d'angles de goutte par rapport au même protocole avec de l'éthanol ou de l'eau ultrapure.

Les valeurs des expériences sont présentées dans le tableau 5. Entre HAG et HAG_1, un nouveau polissage et nettoyage de la surface est réalisé.

	HAG19	HAG19_1	HAG20	HAG20_1	HAG21	HAG21_1
Solvant	THF	THF	Eau	Eau	Ethanol	Ethanol
Moyenne thêta (°)	38	43	31	37	43	52
Écart type thêta (°)	3	2	5	6	7	7

Tableau 5: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface de pastilles HAG polies et nettoyées aux bains à ultrasons dans différents solvants (THF, eau ultrapure et éthanol).

Aux vues des résultats, le THF est la meilleure option. C'est ce solvant qui possède les écarts type les plus petits et donc une meilleure reproductibilité aux différents endroits des surfaces.

C. Caractérisations physico-chimiques des pastilles d'hydroxyapatite

Bons nombres des techniques de caractérisations qui vont suivre et énumérées dans le chapitre II sont basées sur le principe d'interaction entre un faisceau incident et le matériau étudié. Ce dernier va devenir le siège d'interactions entre les éléments qui composent le faisceau et les atomes de l'échantillon. Les informations obtenues sont donc en lien direct avec le matériau analysé.

1. Mesures d'angles de goutte

Une des propriétés de surface très intéressante étudiée est la mouillabilité de surface. Le principe expliqué précédemment se mesure à l'aide d'un goniomètre. Deux goniomètres différents ont été utilisés pour réaliser les mesures d'angles de goutte.

a) Goniomètre portatif

Le premier goniomètre utilisé au début des mesures d'angle de goutte est le modèle 68-76 Pocket Goniometer PGX +. Il s'agit d'un modèle portatif qui permet de mesurer la mouillabilité d'une surface en plaçant simplement le dispositif au-dessus de celle-ci sans besoin de préparations spécifiques. Il est équipé d'une pompe intégrée qui délivre des gouttelettes avec une précision de 0,5 µl et d'une caméra intégrée qui capture les images des gouttelettes uniques. Ceci permet de déterminer l'angle de contact statique à "l'équilibre" ou un mouillage dynamique de la surface à l'aide d'une séquence d'images. Pour notre étude, toutes les acquisitions ont été faites via le logiciel fourni par le constructeur. Ce goniomètre a été utilisé en mode dynamique. A partir de la création d'une goutte de 3 µL pour le dépôt, une mesure dynamique de l'angle est réalisée pendant 30 secondes, donnant lieu à la mesure de 150 valeurs (voir figure 5). 80 mesures sont faites durant la première seconde pendant laquelle la goutte se

stabilise sur la surface puis une mesure toutes les 0,4 secondes afin d'observer son évolution. L'allure de ces mesures est présentée ci-dessous.

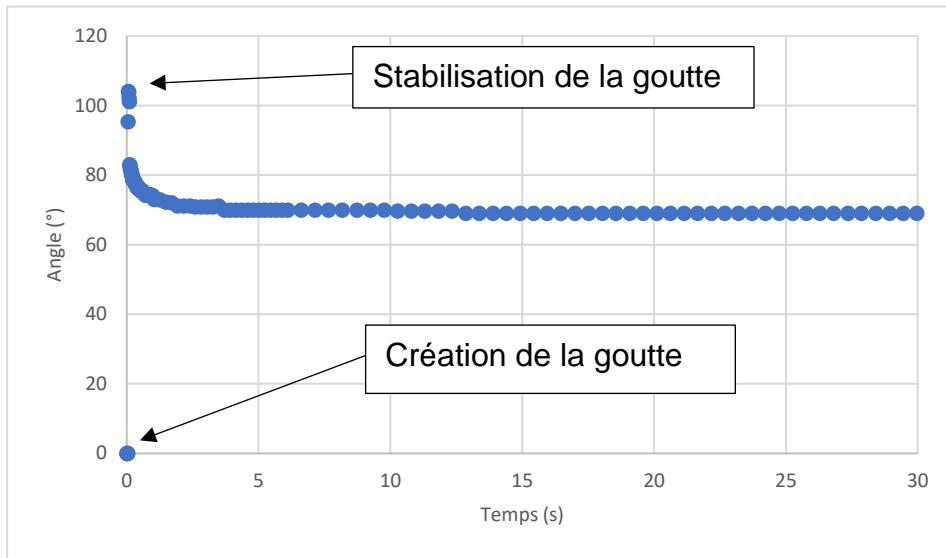


Figure 5: Mesure dynamique d'un dépôt d'une goutte d'eau sur la surface d'une pastille.

Les 5 premières mesures sont faites pendant la création de la goutte, ce qui explique les valeurs nulles de départ. Le dépôt de la goutte sur la surface se fait par un système de ressort sur l'aiguille. L'aiguille se déplace automatiquement de sa position initiale pour y revenir rapidement afin de provoquer la chute de la goutte. Les valeurs d'angles supérieures à 100° avant une seconde de mesure sont donc dues à la mesure de la déformation de la goutte qui est en train de se stabiliser à la surface de l'échantillon. Les mesures qui nous intéressent sont donc celles comprises entre 1 seconde et 30 secondes. Cela correspond à la goutte qui n'est plus soumise à des perturbations après sa chute et se stabilise par rapport à la surface de l'échantillon. Chaque point des courbes de représentation des mesures en fonction du temps présenté dans ce travail à l'aide de ce goniomètre correspond à la moyenne des 70 valeurs dynamiques faites comprises entre 1 et 30 secondes. L'écart type sur cet intervalle représente la variation des mesures qui doit respecter la marge d'erreur de la machine ($\pm 5^\circ$). Toute valeur supérieure à 5° conduit à la non-validité de la mesure concernée.

Ce dispositif est couplé à un plateau de réglage présenté dans la figure 6 afin d'avoir une surface horizontale par rapport à l'appareil. En jouant sur les 3 vis disponibles, l'inclinaison de la surface induite par le polissage peut être corrigée. Une lecture correcte de l'angle de goutte peut alors être faite.

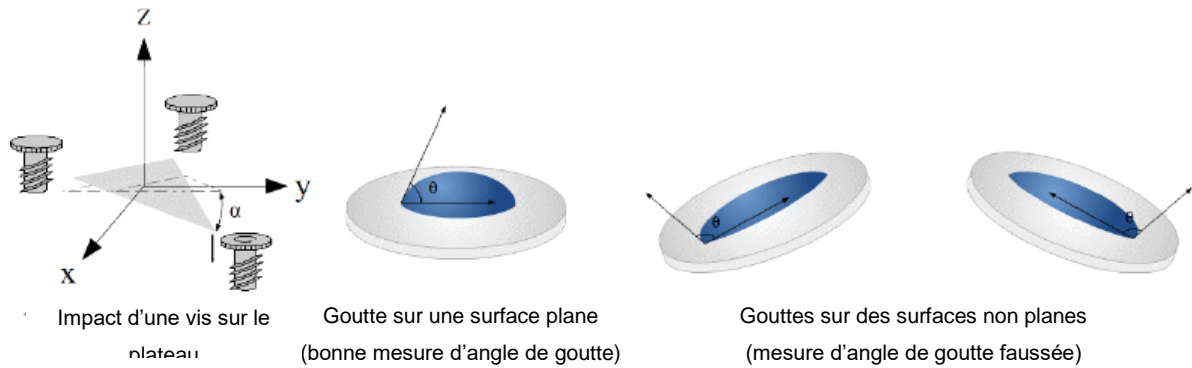


Figure 6: Schéma du plateau de réglage et descriptif des mesures d'angles erronées.

b) Goniomètre KRÜSS Drop Shape Analyser (DSA)

Le second goniomètre utilisé est le DSA100 de l'entreprise KRÜSS®. Ce dispositif plus volumineux permet une précision de dépôt plus importante que le goniomètre précédent. L'aiguille de dépôt est visible par l'utilisateur et le plateau de dépôt des échantillons est contrôlable suivant les 3 axes. Cela permet de définir l'emplacement de mesure d'angle avec précision. L'aiguille dépose la goutte sur la surface à étudier en descendant au contact de celle-ci, autorisant une répétition des mesures en un même lieu avec plus de précision car la position de l'aiguille n'est pas modifiée entre chaque mesure.

Deux méthodes de mesures d'angles de goutte ont été utilisées. La première se nomme dépôt de goutte ou sessile drop fitting. Le calcul de l'angle se fait en adaptant l'équation de Young (p.11) pour les contours de courbes. La mesure de l'angle de contact est obtenue à partir de la tangente au point triple solide-liquide-gaz. La seconde méthode se nomme l'équation du cercle ou cercle fitting. Elle est utile plus particulièrement lorsque l'angle mesuré est faible ($< 30^\circ$). Le contour complet de la goutte est alors mathématiquement corrélé à un segment de cercle. Il n'est plus question de la zone d'intersection avec la ligne de base mais bien de la forme complète de la goutte. Les mesures d'angles sont réalisées à l'air ambiant avec une goutte d'eau distillée de $2\mu\text{L}$.

L'homogénéité des surfaces a pu être étudiée en réalisant des mesures à 5 zones différentes de la surface. Le schéma ci-contre indique l'emplacement de ces mesures. L'objectif est d'obtenir des valeurs proches comprises dans la marge d'erreur des mesures de la machine à savoir plus ou moins 5 degrés. Après obtention de cette homogénéité de surface, les mesures de répétabilité sont faites à la position 1.

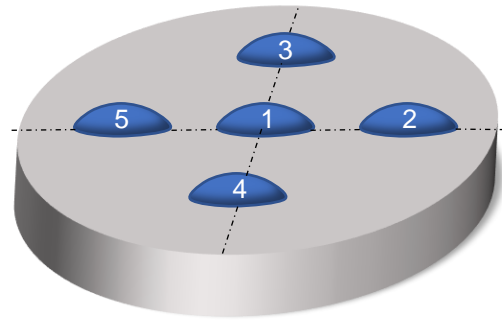


Figure 7: Positions des gouttes pour les mesures d'angles sur la surface des pastilles.

Les graphiques d'évolution des mesures d'angles de goutte représentent ces valeurs en degrés en fonction du temps en secondes. Une goutte est déposée en position 1 (voir figure 7). Après sa stabilisation, la mesure est prise puis elle est retirée à l'aide d'un papier absorbant. L'échelle de temps des graphiques correspond donc au temps de contact d'une goutte d'eau avec la surface de la pastille. Ce temps est de 15 secondes, il correspond à un temps de 10 secondes de stabilisation de la goutte avant la prise de la mesure plus un temps de 5 secondes nécessaires pour retirer la goutte de la surface. C'est pourquoi une valeur est représentée toutes les 15 secondes. Les courbes d'évolutions d'angles de contact que l'on rencontrera par la suite représentent les moyennes et les écart types de plusieurs expériences sur des pastilles qui ont subi le même protocole expérimental. Il en est donc tiré une évolution moyenne pour les différentes expériences menées durant ces travaux.

2. Profilométrie

Les mesures de rugosité sont obtenues à l'aide d'un profilomètre Alpha-Step IQ. Le principe de cet appareil est de déplacer une pointe sur la surface de l'échantillon tout en appliquant une force afin de maintenir le contact entre la pointe et la surface étudiée. La pointe va alors se déplacer sur l'échantillon tout en accompagnant la silhouette. Trois informations importantes sont obtenues à l'aide de cet appareil qui définissent la rugosité de surface des échantillons :

- Le profil de rugosité qui correspond au suivi de l'amplitude de la pointe sur la distance parcourue de l'échantillon.
- La rugosité moyenne arithmétique R_a qui donne une information globale de l'amplitude de rugosité en occultant les irrégularités de surface. Ce qui dans

notre cas est utile pour caractériser notre surface polie qui ne comporte pas trop de marques de surface laissées par les outils.

- La rugosité moyenne quadratique R_q permet de valoriser l'exploitation des plus hauts creux et les plus hautes amplitudes afin de rendre compte de leur présence. Dans notre cas, cette valeur peut nous renseigner sur la qualité du polissage.

Les paramètres suivants sont fixés pour toutes les expériences : une force appliquée par la pointe de 97,5 mg , une vitesse de balayage de 5 $\mu\text{m/s}$ avec une résolution de 0,01 μm . La distance de mesure a d'abord été de 1 mm. Elle a été augmentée à 2 mm pour mieux correspondre au diamètre d'une goutte déposée en surface pour les mesures de mouillabilité. Il n'a pas été noté de différences majeures avec ces modifications de paramètres. Les profils de rugosité ainsi que les valeurs de R_a et de R_q sont le résultat de trois mesures à différents endroits de la surface des pastilles.

3. Diffraction des rayons X

La diffraction a pour origine un phénomène de diffusion par un très grand nombre d'atomes. Les atomes étant arrangés de façon périodique en un réseau, les rayons X diffusés ont des relations de phase entre eux. Ces relations peuvent être constructives ou destructives suivant les directions. Les relations constructives qui correspondent aux faisceaux diffractés sont définies par la loi de Bragg (figure 8) :

$$2d_{hkl} * \sin(\theta) = n\lambda \quad (6)$$

Cette loi relie la longueur d'onde λ du faisceau de rayons X, son angle d'incidence θ , la distance inter-réticulaire d_{hkl} entre 2 plans cristallins et l'ordre de diffraction n .

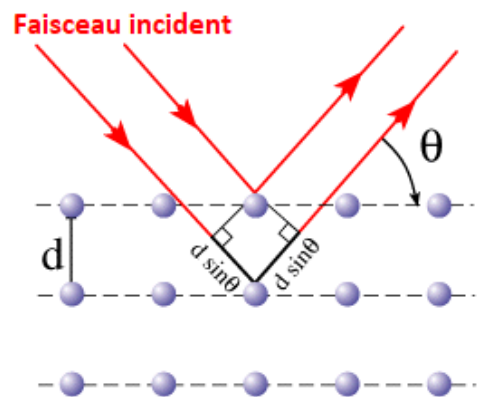


Figure 8: Schéma démonstratif de l'application de la loi de Bragg.

La diffraction des rayons X sur les pastilles est enregistrée par un diffractomètre Bruker AXS D8 Advance à température ambiante dans une configuration Bragg-Brentano. Les données sont collectées en focalisant une source cuivre sur l'échantillon, une zone 2θ comprise entre 10 et 60 ° est suffisante pour voir apparaître la majorité des plans de l'HA. Afin de pouvoir comparer les diffractogrammes entre eux, le pas de mesure est fixé à 0,02° et le temps d'acquisition à 0,5 s.

Des diffractogrammes ont été réalisés dans des conditions spécifiques. Un taux d'humidité contrôlé de 25% est appliqué pendant l'analyse DRX d'échantillons. Ceci dans le but d'observer ou non un impact après plusieurs mesures d'angles de goutte (de 1 à 40 mesures) sur la surface des pastilles. Une dilatation des paramètres de mailles due à une saturation en eau de la surface par exemple. Le diffractomètre utilisé est un Bruker AXS D8 munit d'un détecteur de type Lynxeye et d'une chambre réactive de type Anton Paar XRK900. Dans une enceinte close, le taux d'humidité a été augmenté à 25% par apport d'air en bouteille et une augmentation de température à 65°C. Une série de diffractogrammes est enregistrée en commençant par un état sans augmentation de l'humidité à 65°C, puis cinq diffractogrammes espacés d'une heure à 25% d'humidité et un dernier où le flux d'air a été interrompu.

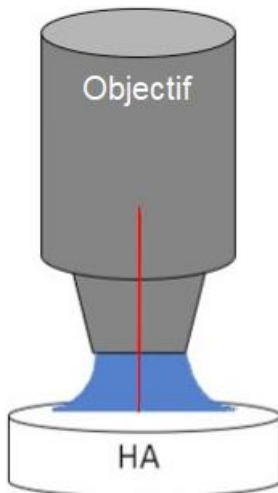
Durant l'analyse des résultats, des différences d'intensités et de largeurs de pics ont été observées entre des pastilles vierges et irradiées électroniquement. Une étude complémentaire a donc été conduite pour déterminer si le traitement avait induit à une modification structurale de la pastille. Pour élucider la question, un mélange à l'état de poudre avec un témoin est employé. Le rôle du témoin sera de subir les mêmes conditions que l'HA pour pouvoir indiquer que c'est bien l'échantillon qui réagit aux conditions et pas l'analyse. Le témoin est Al_2O_3 dont la cristallinité ne bougera pas pendant les analyses. Un premier mélange avec 10 % de témoin est fait puis un second cette fois-ci avec 30 % de témoin. Ce dernier sera également soumis aux analyses sous humidité contrôlée de 25%.

Pour toutes ces analyses, la zone diffractante des échantillons est sous la forme d'une raie qui ne change pas tout au long de l'analyse. Ceci grâce à l'utilisation de fentes sur le trajet entre le faisceau incident et l'échantillon. Dans l'optique d'observer un changement de cristallinité sur un échantillon après un traitement de surface, une DRX en volume est employée. La zone diffractante est dans ce cas de figure non plus une raie fixe mais une forme rectangulaire qui va changer tout en gardant un volume constant par la variation de l'ouverture de fente du faisceau incident. Aux bas angles, le faisceau incident est rasant et irradie une très grande surface. L'ouverture de fente sera donc faible pour déterminer une zone d'étude sur l'échantillon. Plus l'angle entre le faisceau incident et la surface à analyser sera grand, plus la surface irradiée diminuera. L'ouverture de fente sera donc de plus en plus grande à mesure que l'angle d'incidence augmente afin de maintenir un volume d'analyse constant. Il s'agit donc de DRX en fentes variables.

La dernière machine de diffraction des rayons X utilisée est un diffractomètre Smartlab Rigaku. Ce dernier permet des analyses de couches minces très précises. La caractéristique intéressante de cet appareil est le détecteur ponctuel qu'il possède. Nous nous en sommes donc servi pour détecter uniquement la diffraction des rayons X au centre d'une pastille qui a subi 40 mesures d'angles de goutte consécutive. Toujours dans le but d'observer ou non une modification structurale à la surface de la pastille après un contact prolongé avec de l'eau.

4. Spectroscopie Raman

Un microspectromètre confocal Labram (Horiba Gr, Jobin Yvon, Lille, France) a permis la caractérisation des échantillons. La longueur d'onde du laser hélium-Néon utilisé est de 632,82 nm. Le spectromètre Raman est couplé avec un microscope Olympus (BX40). Un objectif d'un grossissement x100 est pris pour focaliser le laser sur la surface afin de collecter la lumière rétrodiffusée. La plage d'enregistrement des spectres se situe entre 200 et 2400 cm^{-1} avec une résolution du spectre de 4 cm^{-1} . Sur chaque surface caractérisée, plusieurs spectres sont obtenues à différentes localisations (les localisations sont les mêmes que pour les mesures d'homogénéité de surface de la figure 7). Chaque spectre est le résultat d'une moyenne de deux accumulations de 5 s. Pour certains échantillons, de multiples spectres le long du diamètre de la pastille ont été élaborés.



Une pastille a fait l'objet d'une étude cinétique. Comme cela est imagé sur la figure 9, l'objectif du microscope et la surface de la pastille sont liés par de l'eau. Le but de cette étude a été de suivre l'évolution des spectres Raman due à une exposition prolongée de la surface analysée par de l'eau. Ces conditions sont prises en rapport avec les mesures consécutives d'angles de goutte qui induisent un temps de contact plus ou moins long de la surface des échantillons avec de l'eau.

Figure 9: Schéma du dispositif dans des conditions totales d'immersion du faisceau (en rouge) et de la surface.

5. Spectroscopie Infrarouge

Une molécule est en perpétuel mouvement du fait des charges qui la composent. Un faisceau de lumière infrarouge qui traverse un échantillon permet d'obtenir un spectre indiquant la quantité d'énergie absorbée à chaque longueur d'onde. Après avoir appliqué une transformation de Fourier sur ce spectre, les spectres d'absorbance et de transmission peuvent être analysés. Cette technique est basée sur le fait que les molécules possèdent des modes vibratoires et qu'elles ont donc des fréquences propres pour lesquelles elles vibrent en correspondance avec les niveaux d'énergies. L'énergie apportée par le faisceau incident va être absorbée, ce qui va induire une modification des niveaux d'énergies que l'on nomme état d'excitation. Cette énergie va être libérée par vibrations des molécules. La présence ou l'absence de ces niveaux d'énergies permet de remonter aux éléments présents dans l'échantillon étudié. Le dispositif est un spectromètre FT-IR Frontier de l'entreprise PerkinElmer®. Les analyses ont été faites sur des pastilles de KBr. 2 mg de l'échantillon étudié est incorporé à une poudre de KBr pour un total de 200 mg.

6. Microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à un spectromètre de rayons X à dispersion d'énergie (EDX).

Les images de microscopie électronique à balayage (MEB) sont faites avec un JEOL JSM-7800 F LV à une tension de 10 kV. Il est également couplé à un spectromètre de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) (OXFORD INSTRUMENT X-Max^N). Les principes du MEB et de l'EDX sont rappelés succinctement. Le microscope électronique à balayage est composé d'un canon à électrons, d'un système de focalisation, d'un système de balayage et d'un système de détection (voir figure 10). Tous ces composants sont sous vide pour permettre la création et le contrôle de la trajectoire des électrons. La pointe du canon à électrons en hexaborure de lanthane (LaB₆) est chauffée sous vide pour libérer des électrons par effet thermoélectrique. Les électrons obtenus sont accélérés par application d'une différence de potentiel entre l'électrode de focalisation et une anode. Le faisceau ainsi formé que l'on nomme cross-over est orienté dans une colonne munie de condensateurs. Cela va permettre une réduction du diamètre du faisceau pour une précision améliorée. Un système de lentilles magnétiques est utilisé pour la focalisation du faisceau issue du cross-over. Et enfin, un générateur associé à des bobines de balayage garantissent le balayage de la surface par déviation du faisceau électronique suivant le plan xy (plan perpendiculaire au faisceau). Les systèmes d'acquisition disponibles rendent possible

la construction d'images en électrons rétrodiffusés, en électrons secondaires ainsi qu'en photons X (cartographie). Les images sont créées point par point par balayage de la surface par le faisceau d'électrons et récupération des données des différents détecteurs d'électrons rétrodiffusés, d'électrons secondaires et du spectromètre X à dispersion d'énergie.

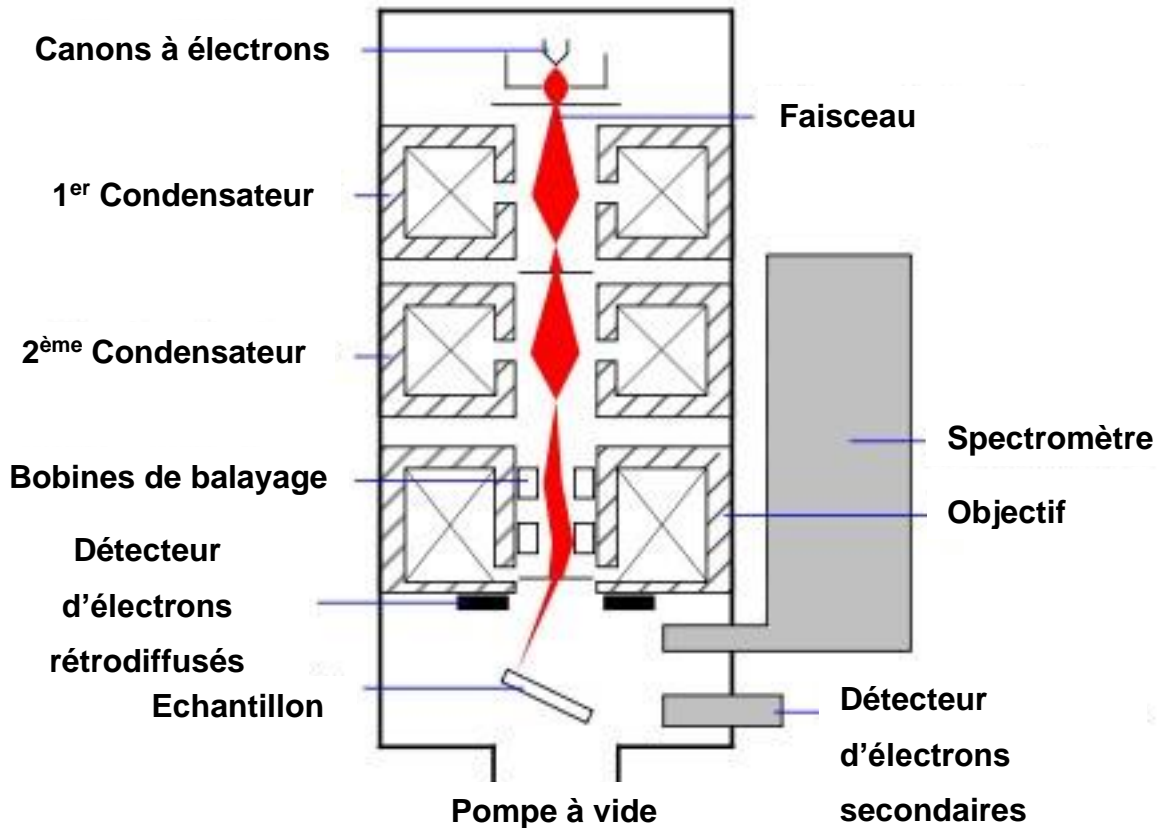


Figure 10: Schéma du principe de fonctionnement d'un MEB (Chal et al., 2007).

Le spectromètre à dispersion d'énergie (OXFORD INSTRUMENT X-Max^N) couplé au MEB est un détecteur à semi-conducteur silicium-lithium. Son principe de fonctionnement consiste à détecter les photons X issus de l'échantillon qui viennent en contact avec sa zone de détection. Ces photons sont absorbés par les couches du silicium et engendrent des photoélectrons. Cela conduit à la formation de paires électron/trou. Les pastilles d'HA ont été métallisées en surface par une couche de chrome de 200 Å.

7. Spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS)

Les analyses de spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS) ont été menées par un appareil Kratos AXIS Ultra DLD. La source monochromatique à rayons X de ce dispositif utilise la raie K α de l'élément aluminium à une intensité de 10 mA et une tension de 12 kV. Le principe de fonctionnement de ce dispositif est la libération de

photoélectrons (électrons émis par la surface de l'échantillon) après éclairage de la surface par des photons d'énergie $h\nu$, avec h la constante de Planck et ν la fréquence du photon incident. Cette libération n'est possible que si l'énergie des photons est supérieure à leur niveau d'énergie, induisant une énergie cinétique aux photoélectrons libérés. La variation de l'énergie de liaison des photoélectrons en fonction de l'environnement chimique des atomes dont ils sont issus est à l'origine du principal intérêt de cette technique. Ceci permet en outre de déterminer la structure électronique et l'environnement chimique des atomes présents dans l'échantillon mais aussi de quantifier les éléments présents dans les différentes couches. Cette technique de caractérisation est adaptée à l'étude surfacique des échantillons puisque la profondeur d'analyse ne dépasse pas 10 nm.

Les spectres de hautes résolutions des éléments oxygène, carbone, calcium et phosphore sont obtenus. Tous les spectres ont été corrigés en charges à l'aide de la valeur d'énergie de liaison des carbones 1s (284,6eV). Le logiciel d'analyse des spectres utilisé est Casa XPS (version 2.3.16, Casa Software Ltd.). La quantification des spectres a été faite après soustraction du bruit de fond par la méthode de Shirley.

8. Spectrométrie de masse à temps de vol (ToF-SIMS)

Le principe d'utilisation d'un spectromètre de masses d'électrons secondaires (SIMS) est le suivant : la surface de l'échantillon est bombardée par des ions bismuth Bi^+ . Au moment de leur collision avec la surface à analyser, les ions Bi^+ pénètrent dans le matériau. Il en résulte des interactions en chaînes qui conduisent à l'éjection d'éléments neutres, d'électrons et d'ions chargés positivement et négativement de la surface (entre 1 à 3 nm). Le spectromètre de masse permet alors de détecter les éléments libérés par la surface en fonction de leur masse atomique. Dans le cas d'une séparation des ions secondaires par temps de vol, leur distinction se fait par le temps que chaque élément met à parcourir une distance définie avant d'atteindre le détecteur (figure 11). Plus les éléments seront lourds, plus le temps d'arrivée au détecteur sera long. Un phénomène de sous-estimation des éléments peut intervenir durant ce processus. Si plusieurs éléments passent en même temps devant le détecteur, ils ne seront comptés que pour un seul. Durant les analyses, un canon à électrons non focalisé est utilisé pour compenser les effets de charges au niveau de l'échantillon qui peuvent fausser les résultats.

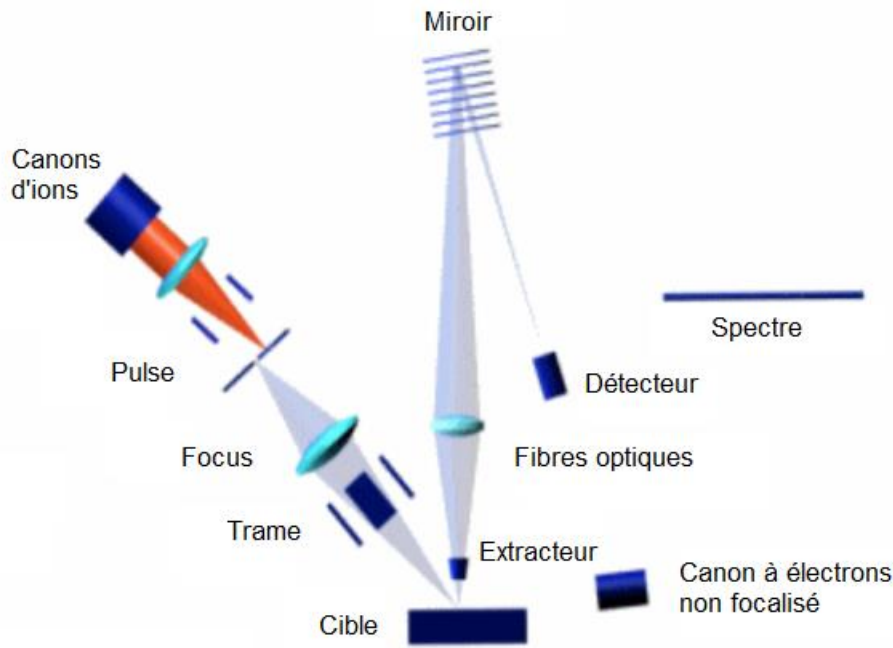


Figure 11: Principe de fonctionnement du ToF-SIMS (©ION-TOF GmbH).

Les analyses sont faites à l'aide d'un spectromètre ToF-SIMS 5 (IONS-TOF GmbH, Allemagne) muni d'une source liquide d'ions bismuth. Les différents échantillons ont été bombardés par des pulsations à 25 keV d'ions Bi^{3+} . Trente pulsations consécutives d'une microseconde ($1 \mu\text{s}$ avec un courant de 1 pA) conduisent à l'obtention des données pour une zone tramée de $500 \mu\text{m}$ par $500 \mu\text{m}$. Trois zones sont analysées pour les spectres de cations et deux zones pour les spectres d'anions. Les résultats enregistrés sont combinés et normalisés par le nombre total de coups. Un canon à électrons non focalisé est utilisé pendant les analyses pour compenser les effets de charges en surface de l'échantillon.

Deux analyses différentes ont été conduites. La première comportait cinq pastilles avec différents modes de nettoyage de la surface afin d'obtenir des informations sur la pollution de surface. Dans ce cas de figure, les spectres en ions positifs et négatifs présentés sont le résultat de la moyenne de deux analyses à des endroits différents de la surface. La seconde concerne également cinq pastilles dans différents états de traitements de surface. Une surface vierge, une surface irradiée sous UV, une surface irradiée par bombardement électronique sous une atmosphère d'air, une surface irradiée par bombardement électronique sous une atmosphère d'azote et enfin une surface irradiée par un traitement plasma froid. Les spectres sont le résultat d'une seule analyse au centre de l'échantillon mais avec un temps d'acquisition plus long

dans le but d'analyser une couche atomique. Cela également dans le but d'observer des différences entre les surfaces.

D. Technique de traitement de surfaces

1. Irradiation électronique

La machine utilisée pour la réalisation des irradiations électroniques est le Comet Elab 210 de la société Comet (photo sur la figure 12) qui fabrique des systèmes complets ne nécessitant pas de dispositifs supplémentaires.

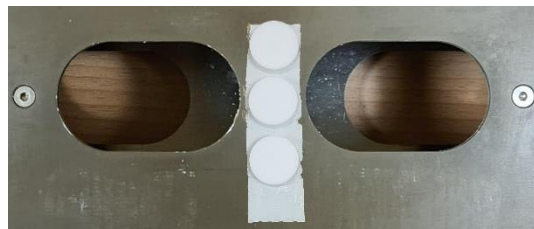


Figure 12: Photos du dispositif Comet et de pastilles d'HA prêtes à être irradiées.

Son schéma est présenté ci-dessous (figure 13, schéma de gauche). La partie haute du schéma représente le plan de travail, les échantillons sont placés dans un chariot muni de rails qui va les conduire sous le canon à électron. La vitesse de ce chariot peut être réglée entre 3 et 30 m/min. Pour toutes les irradiations, la vitesse de chariot est réglée à la vitesse minimale, à savoir 3 m/min. Il faut ensuite paramétrer la machine afin d'obtenir les conditions d'irradiation voulues. Le canon à électron noté e-beam sur le schéma a une forme tubulaire. Son enceinte est entièrement sous vide pour pouvoir générer des électrons. Une différence de potentiel est appliquée entre la paroi du canon qui joue le rôle de cathode et un filament en son centre (dans le sens de la hauteur du tube) qui joue le rôle de l'anode. Le filament va émettre des électrons dans tout le tube qui vont être accélérés avec un fort champ électrique et redirigés en direction de la zone d'irradiation (figure 13, schéma de droite).

La zone qui permet à la fois d'avoir une enceinte sous vide et de laisser passer les électrons est représentée en rouge sur le schéma ci-dessus (à gauche) et plus en détail sur le schéma de droite.

Il s'agit d'une fenêtre en titane de forme rectangulaire. Les électrons ne sont pas concentrés en un seul point mais forment un « rideau » d'électrons de la taille de cette fenêtre d'une dimension de 270 mm de longueur pour 40 mm de largeur. La distance

minimale entre la fenêtre de sortie des électrons et la surface à irradier est de 10 mm et peut être augmentée jusqu'à 50 mm pour permettre une irradiation d'échantillons plus imposants. Les électrons doivent donc parcourir cette distance pour atteindre la surface. Comme les pastilles sont très petites, toutes les irradiations seront conduites avec une distance minimale de 10 mm afin de minimiser au maximum les interactions que peuvent avoir les électrons avec les différents éléments présents dans l'air.

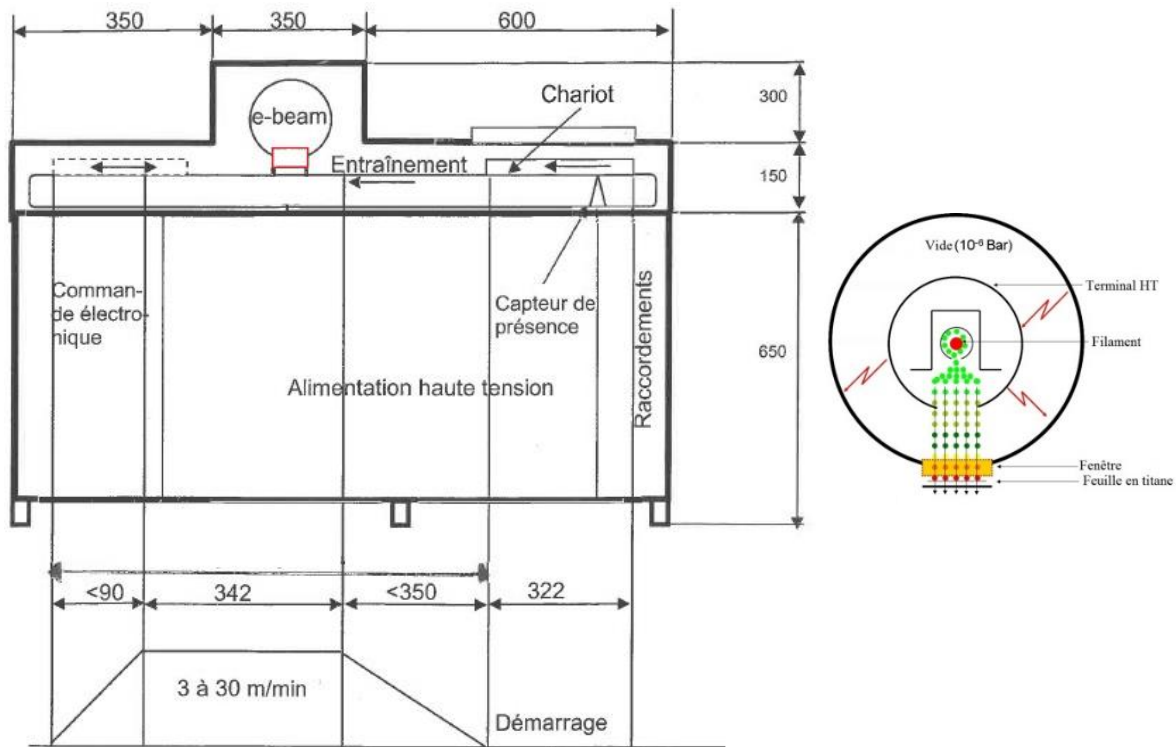


Figure 13: Schéma du dispositif Comet Elab 210 (à gauche) et de l'enceinte du canon à électrons (à droite).

D'autres paramètres peuvent être contrôlés comme la tension d'accélération des électrons entre 80 et 180 kV, l'intensité du courant entre 1 et 20 mA. Tous ces paramètres sont reliés par une relation propre à chaque machine donnée ci-dessous :

$$D = \frac{K \cdot I}{v} \quad (5)$$

D : La dose d'irradiation de l'échantillon en kGy (1Gy= niveau de radiation requis pour déposer 1 Joule d'énergie sur 1kg de n'importe quel matériau) ; K : La constante de la machine en m.min⁻¹.mA⁻¹ ; I : L'intensité en mA ; V : la vitesse du chariot en m.min⁻¹

La dose D se traduit donc par la quantité d'énergie déposée par la source d'électrons par unité de masse. Les électrons vont plus ou moins pénétrer en profondeur dans le matériau en fonction des différents paramètres évoqués suivant les courbes de la figure 14. On observe rapidement que la profondeur de pénétration est très fortement

influencée par la tension d'accélération. Une faible tension de 80 kV ne va pas permettre d'appliquer 100% de la dose sur 5 µm de profondeur du matériau. A l'inverse, une forte tension d'accélération conduira à atteindre une dose d'irradiation de 100 % sur cent micromètres de profondeur au maximum.

Plus cette tension sera grande, plus elle permettra d'apporter une dose uniforme plus en profondeur.

Les conditions d'irradiations sont étudiées pour un seul passage sous la source d'électrons à une distance entre la fenêtre de titane et la surface de l'échantillon ainsi qu'une vitesse de chariot constante. Elles seront respectivement de 10 mm et 3 m.min⁻¹. Avec les paramètres de la machine, le temps d'irradiation des échantillons peut être obtenu en divisant la largeur du « rideau » d'électrons par la vitesse du chariot. Ce qui nous donne un temps d'irradiation de 0,8 seconde.

$$T = \frac{\text{largeur de fenêtre (m)}}{\text{vitesse du convoyeur } \left(\frac{\text{m}}{\text{s}}\right)} = \frac{0,04}{0,05} = 0,8 \text{ s} \quad (7)$$

La tension d'accélération du dispositif est modifiée afin de jouer sur la profondeur de pénétration des électrons dans l'échantillon qui influencera les valeurs maximums d'intensités associées.

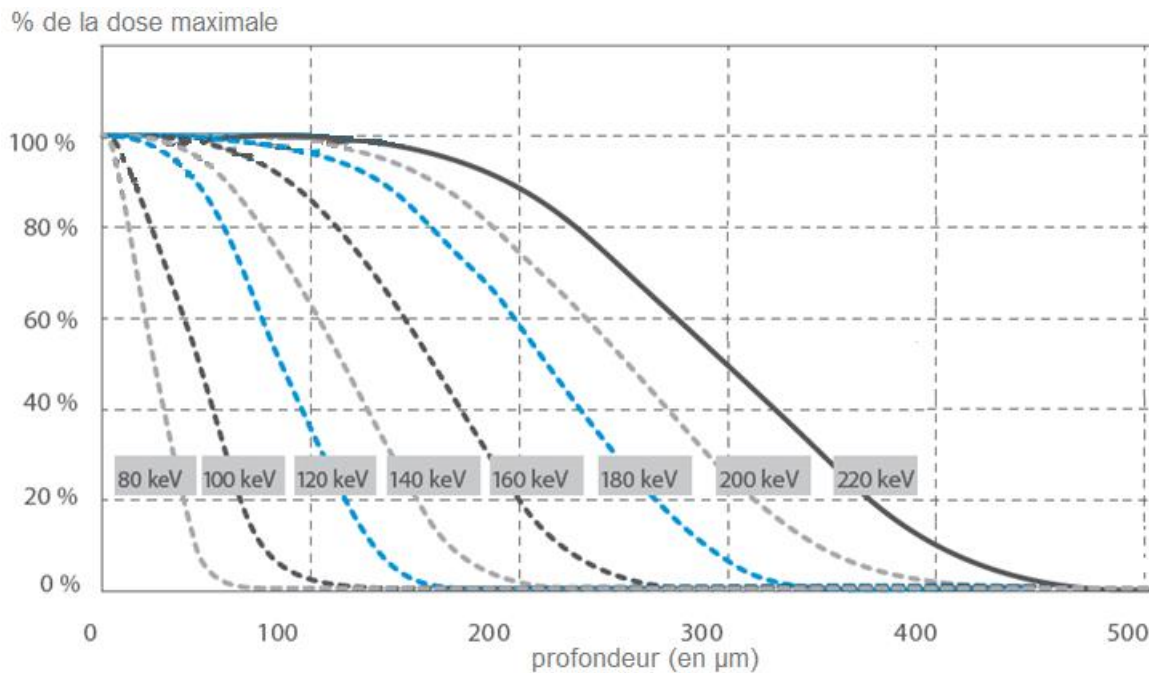


Figure 14: Evolution de la pénétration du pourcentage de dose dans un matériau quelconque.

Les doses minimales et maximales applicables par la machine sont respectivement de 40 kGy de 975 kGy. La dose minimale induit une intensité de travail minimale de 1 mA

pour une tension d'accélération de 180 kV. La dose maximale nécessite une tension d'accélération de 110 kV afin d'atteindre une intensité maximale de 20 mA.

Il est également étudié les doses maximales délivrables pour la tension d'accélération la plus élevée de 180 kV et une intermédiaire de 150 kV. Ceci correspond à une dose de 460 kGy pour une intensité de 12,5 mA et une dose de 640 kGy pour une intensité de 15 mA respectivement.

Pour les irradiations électroniques sous atmosphère d'azote, la machine est placée sous un flux continu de 5 slpm (litre standard par minute) pendant 15 minutes. Les pastilles à irradier sont ensuite placées dans l'enceinte de la machine et le flux est maintenu pendant encore 10 minutes. Durant les étapes d'irradiations, le flux est descendu à 2 slpm. Les conditions évoquées précédemment pour les traitements sous air sont également appliquées avec cette nouvelle atmosphère de travail. La comparaison des résultats de traitements sous air et sous azote a encouragé des expériences à plus faible dose pour déterminer si dans de telles conditions, une atmosphère contrôlée peut être bénéfique. Pour une tension d'accélération de 180 kV, l'intensité du faisceau d'électrons de la machine a été progressivement augmenté à 3, 5 et 7 mA pour des doses respectives de 110, 185 et 260 kGy.

2. Irradiation Ultraviolette

La machine utilisée pour la réalisation des irradiations UV est le système UV Dr. Hönle de la société Dr. Hönle AG qui conçoit de nombreux systèmes pour les industries. Comme pour le dispositif d'irradiation électronique, les échantillons sont amenés sous la source d'irradiation à l'aide d'un chariot avec une vitesse pouvant être réglée entre 100 et 1000 mm/s (voir figure 15).



Figure 15: Dispositif Honle.

La source UV est composée d'une lampe à mercure UVH de type Z d'une puissance maximale de 4800 Watts avec un maximum d'émission à 370 nm. Le spectre de la lampe est présenté sur la figure 16.

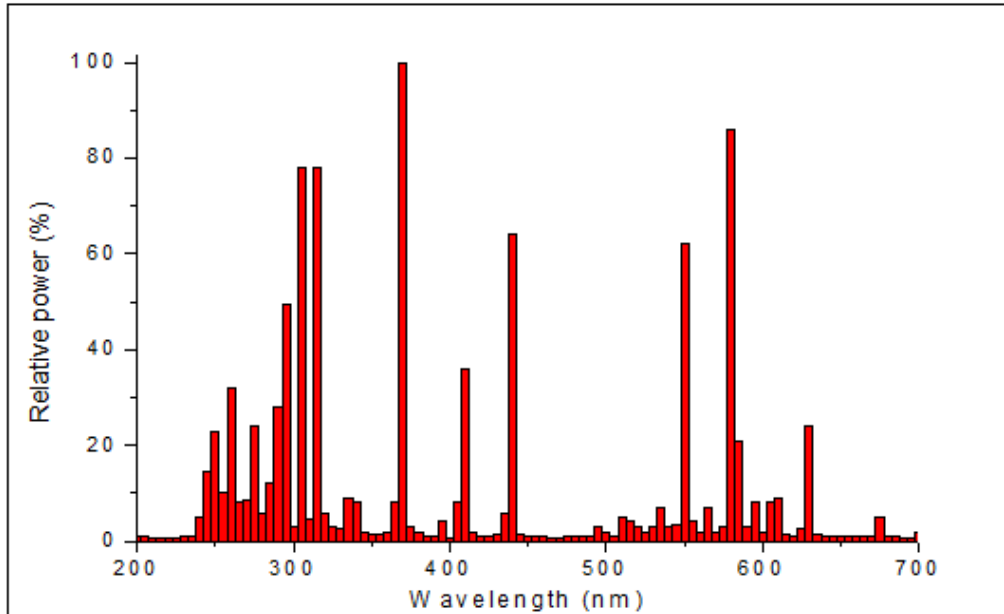


Figure 16: Spectre d'émission de la lampe à mercure UVH de type Z du système Dr. Hönl.

Les irradiations ont été conduites à une puissance de 100 % de la lampe afin de maximiser l'impact du traitement. La vitesse la plus faible a été choisie, soit 100 mm/s, pour un temps d'irradiation le plus long possible qui correspond à 1,3 seconde.

$$t = \frac{\text{largeur de fenêtre (mm)}}{\text{vitesse du convoyeur } \left(\frac{\text{mm}}{\text{s}}\right)} = \frac{130}{100} = 1,3 \text{ s} \quad (8)$$

Durant les traitements menés sur les pastilles stockées en étuve, un seul passage sous la lampe a été réalisé, conduisant à une dose d'irradiation de 1380 kJ/cm². Cette valeur a été mesurée à l'aide d'un dosimètre disque UV-Technik. En ce qui concerne les traitements des échantillons stockés dans de meilleures conditions, plusieurs passages consécutifs sous la source ont été effectués. Il a été appliqué des doses de 1 380, 2 760 et 5 520 kJ/cm² pour un, deux et quatre passages sous la lampe respectivement.

3. Plasma froid

Un plasma est défini comme le quatrième état de la matière par rapport aux états solides, liquides et gazeux. On désigne par le terme plasma tous les gaz ionisés qui sont donc constitués d'espèces chargées comme les électrons, les photons, les ions (positifs ou négatifs) et non chargées comme les atomes ou molécules.

Le principe de création d'un plasma est d'appliquer un courant électrique au travers d'un gaz qui va conduire à la création de charges le constituant. Sa réalisation se fait dans une enceinte fermée afin d'atteindre des conditions de pression favorables. Lors de l'application du courant, un électron primaire va être accéléré à l'aide du champ électrique entre la cathode et l'anode pour mener à l'ionisation d'un atome du gaz. Un électron supplémentaire est ainsi libéré puis accéléré pour qu'il acquière une énergie suffisante et à son tour, ionise un autre atome. Ce phénomène, appelé avalanche électronique, se poursuit pour former un plasma si le champ appliqué est suffisant. Le terme de plasma froid est donné lorsque celui-ci possède une puissance dissipée hors équilibre. A l'équilibre thermodynamique, la température électronique T_e est proche de la température du gaz T_g . Hors de l'équilibre thermodynamique, T_e est très supérieure à T_g (Grill, 1994).

Le dispositif d'irradiation par plasma froid d'hélium est artisanal (voir figure 17).

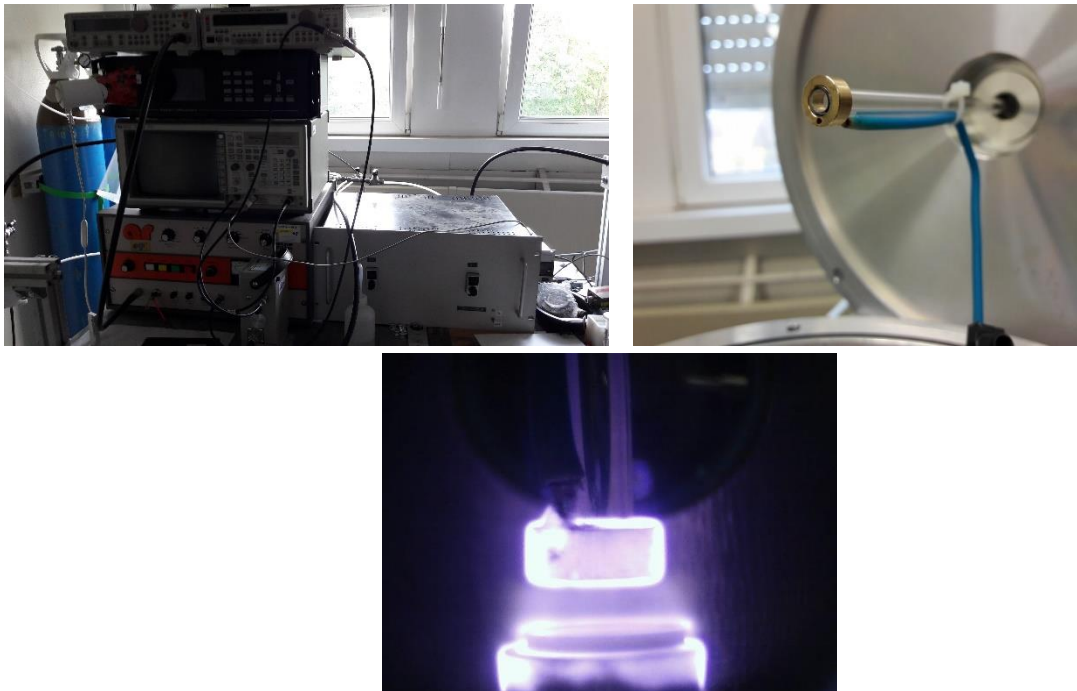


Figure 17: Dispositif d'irradiation par plasma froid.

Une chambre réactionnelle cylindrique est reliée à un injecteur de gaz ainsi qu'à un générateur haute fréquence de 50 Ω . Une anode creuse permet le positionnement des échantillons sous la cathode avec une distance cathode/surface à traiter de 5 mm. La fréquence modulée du générateur est de 13,56 Hz et un générateur d'impulsion permet l'application d'un pulse de 100 μ s ainsi qu'une fréquence modulante de 3 kHz pour éviter la surchauffe du système. Après avoir réalisé un vide d'ordre 1 (10^{-3} Pa) dans le réacteur, un flux d'hélium de 1 L/min est injecté afin de revenir à une pression

atmosphérique. Le pompage est renouvelé pour contrôler la pression de l'enceinte à une valeur de $1,3 \cdot 10^5$ Pa qui sera la valeur où tous les traitements plasma seront faits. Pour l'amorçage du plasma, une puissance de polarisation par irradiation de 10 W est appliquée. Le temps de traitement est de 2 minutes.

E. Etude biologique *in vitro*

Afin d'étudier un effet bénéfique du traitement électronique sur la surface des pastilles d'hydroxyapatite, une première étape de stérilisation est nécessaire.

1. Stérilisation des pastilles

Plusieurs méthodes de stérilisations ont été réalisées ainsi que l'étude de leur efficacité. Elles sont appliquées après un protocole de nettoyage et de stockage en dessiccateur sous vide comme expliqué précédemment. La première stérilisation est une mise en étuve à 180°C pendant 2h des échantillons. La seconde consiste à utiliser des sachets de stérilisation permettant de sceller les pastilles pour un passage sous rayon gamma. L'idée est donc de réaliser les irradiations électroniques avec les pastilles scellées et d'observer si cela a un impact ou non sur la modification de surface pour pouvoir procéder par la suite au rayon gamma. La troisième méthode est l'utilisation de film de polymère PET fin (13 μm d'épaisseur) toujours dans le but de sceller les pastilles et de procéder à une irradiation électronique puis au rayon gamma. La dernière méthode de stérilisation est l'immersion des pastilles dans une solution concentrée de gentamicine (10 mg/mL) pendant 3 heures dans des conditions physiologiques (37°C, 78 rpm). Nous partons du postulat que les surfaces des pastilles sont stérilisées car la concentration très élevée en gentamicine permet une élimination totale des bactéries en présence. C'est cette dernière qui sera utilisée aux vues des résultats non concluant des 3 premières méthodes.

L'étude est menée pour 3 types d'échantillons : 1) les échantillons vierges (V) dont la surface a été polie puis nettoyée de la même façon que le protocole établi précédemment, 2) les échantillons irradiés EB sous air (EB) et 3) les échantillons irradiés EB sous N_2 (N). Les conditions d'irradiations des pastilles sont une tension d'accélération de 150 kV pour une intensité de courant de 15 mA. Ce qui induit une dose de surface de 640 kGy. Huit pastilles sont préparées pour chaque type d'échantillon. Elles sont manipulées sous hotte PSM afin de maintenir une stérilisation constante. Après avoir retiré la gentamicine, on réalise un rinçage dans 1 mL d'eau stérile pendant 1 min pour éliminer le dépôt formé en surface des échantillons (excès

de gentamicine). On retire cette fois-ci l'eau stérile pour laisser sécher les pastilles sous hotte PSM pendant 30min. Les pastilles sont alors stockées à 37°C pour la nuit.

2. Milieu physiologique et prélèvements

Le milieu physiologique utilisé est une solution tampon phosphate salin (PBS). Cette solution est constituée de différents sels à des concentrations bien définies pour être en accord avec celles du corps humain.

Les 3 types de pastilles sont séparés en deux groupes. La moitié sera immergée dans 1 mL de PBS pendant toute la durée des expériences afin de conserver le même milieu. L'autre moitié subira un renouvellement du milieu PBS pour procéder à des analyses dans le temps. Les différents temps de prélèvements sont de 5 min, 15 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 24h, 48h et 72h. Après chaque renouvellement, c'est-à-dire après prélèvement et ajout de 1 ml de PBS pour le prélèvement suivant, les échantillons sont placés dans des conditions physiologiques (37°C sous une agitation de 78 rpm). Chaque prélèvement de 1 mL est séparé en deux quantités égales pour être utilisé dans deux analyses décrites ci-après.

a) Libération de gentamicine

La première moitié des prélèvements sert à la réalisation d'un dosage en UV de la gentamicine. Les analyses UV sont réalisées avec un Multiskan FC (Thermo scientific) à une longueur d'onde de 340 nm. Une solution d'orthophtaldéhyde (OPA) est utilisée pour la révélation des groupements amines de la gentamicine. L'absorbance varie proportionnellement avec la concentration en gentamicine, le relargage de cette dernière (et donc sa concentration dans le milieu étudié) est suivi en fonction du temps. Deux courbes d'étalonnage sont faites pour permettre la détermination des différents paramètres qui sont le coefficient d'atténuation molaire ξ et la valeur de correction. Leur équation de la forme $y = ax+b$ nous permet de remonter à ces valeurs avec ξ égal à la pente et une valeur de correction b qui est l'ordonnée à l'origine. La loi de Beer-Lambert nous permet de remonter à la concentration en gentamicine (en mg/cm²) :

$$A = \varepsilon * l * c \quad (6)$$

A : L'absorbance de la solution ; ξ : Le coefficient d'atténuation molaire ; l : la longueur du trajet du faisceau et c : la concentration de la molécule étudiée

En réorganisant l'équation ci-dessus, la concentration en gentamicine des prélèvements est obtenue en prenant en compte une soustraction par le blanc de la solution d'OPA (soit la valeur b) :

$$c = \frac{A \text{ mesurée} - b}{\varepsilon} \text{ (en mg/mL)} \quad (7)$$

Les concentrations en gentamicine sont alors représentées en fonction des temps de prélèvements (Chap V B).

b) Effet bactéricide

La seconde moitié des prélèvements est utilisée pour la méthode Kirby-Bauer d'inhibition (Josna et al., 2020; Shin et al., 2020). Elle va permettre de déterminer quelle surface a le meilleur effet bactéricide. Elle est plus sensible que la seconde et donnera lieu à une nette différence entre les surfaces vierges (V) et les surfaces irradiées (EB et N).

Dans un support solide, un dépôt de gélatine riche en nutriments (MHA 18 mL) favorisant la prolifération des bactéries est préparé afin de servir de centre de culture des bactéries. Ce milieu est celui de référence pour les antibiogrammes, les graphiques représentatifs de ces résultats qui seront présentés par la suite. Le milieu est dit non-sélectif, c'est-à-dire que toutes les bactéries poussent dessus sans discrimination. On dépose sur cette gélatine un tapis de bactéries (voir figure 18) *Staphylocoque aureus* homogène (10^4 ufc : unité formant une colonie équivalente à 10^4 bactéries/ mL). Ces bactéries sont responsables de la plupart des infections de la peau et des muqueuses.

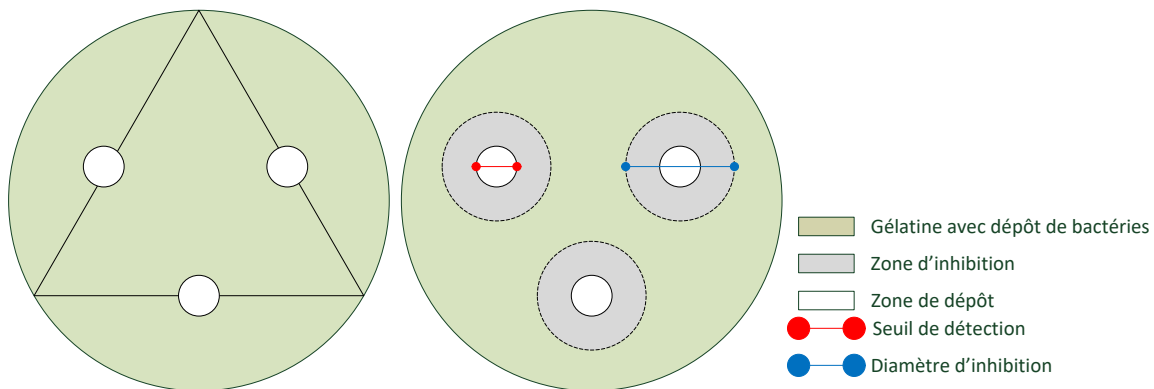


Figure 18: Schéma de disposition des différents prélèvements et mesure du diamètre d'inhibition.

Trois dépôts de trois prélèvements différents sont placés par support solide en formant des trous dans la gélatine (zone blanche sur la figure 18). Après 24 heures d'incubations dans une étuve à 37°C , le suivi de l'activité bactéricide peut être obtenu par traçage du diamètre d'inhibition en fonction du temps de prélèvement. Le diamètre d'inhibition correspond à la mesure du diamètre de la zone autour des dépôts de prélèvements où les bactéries n'ont pas pu proliférer (zone grise sur la figure 18). Les antibiogrammes sont obtenus en représentant ses différentes valeurs de diamètres en

fonction des temps de prélèvements. Les plus grands diamètres d'inhibition reflètent donc une efficacité plus importante contre les bactéries. Un seuil de détection est établi en prenant en compte le diamètre du « trou » nécessaire au dépôt des prélèvements. Tout simplement parce que le milieu de développement des bactéries a été retiré. Les antibiogrammes présenteront donc un seuil de détection de 6 mm. Cette méthode a également été faite directement avec les pastilles après les 72h nécessaire aux prélèvements. La surface des pastilles a été placée en contact avec la gélatine au centre d'un support solide pour à nouveau mesurer des diamètres d'inhibition. Le seuil de détection dans ce cas sera de 13 mm, le diamètre de la surface en contact avec la gélatine.

Chapitre III : Caractérisation des pastilles d'HA vierges et interactions avec l'eau

Chapitre III: Caractérisation des pastilles d'HA vierges et interactions avec l'eau

Il est question dans ce chapitre de mettre en lumière l'état de surface des pastilles après leur préparation. Les anciennes pastilles ont permis d'amorcer les recherches en déterminant des étapes de préparations nécessaires. Les techniques de caractérisations citées dans le chapitre II sont utilisées pour comprendre et étudier notre matériau. Ceci dans le but d'obtenir un état de surface connu et reproductible. On y retrouve :

- la rugosité, la mouillabilité ainsi que la cristallinité des surfaces vierges obtenues respectivement par profilométrie, mesure d'angles de goutte et techniques de caractérisation des matériaux (DRX, XPS, FTIR, spectroscopie Raman...),
- L'impact d'un contact prolongé entre l'eau et les surfaces (DRX, spectroscopie Raman).

Afin d'aider dans cette démarche, des surfaces de référence que sont les lames de verre (LV) de microscope optique subissent les mêmes étapes de préparation pour déceler les éventuelles perturbations.

A. Caractérisation des anciennes pastilles

1. Mouillabilité et état de surface

a) Répétabilité des mesures d'angles de goutte

Comme expliqué précédemment, dans l'attente de nouveaux échantillons fraîchement préparé par le laboratoire de Maubeuge, les expériences sont conduites sur des pastilles sans historique. Elles possèdent deux nomenclatures distinctes : Ech pour les pastilles dont l'historique m'est inconnu et HA qui sont les plus récentes et utilisées par le dernier étudiant en master qui a conduit à la création de ce sujet de thèse. Ces dernières ont principalement été utilisées pour des mesures de répétabilité et l'étude de l'impact d'une irradiation plasma. Leur épaisseur est donc grandement diminuée du fait des nombreux polissages dont elles ont fait l'objet. Le but visé ici est l'obtention d'un standard de reproductibilité pour les échantillons avec des valeurs initiales d'angles de goutte proches ($\pm 5^\circ$, la marge d'erreur de l'appareil) ainsi qu'un suivi de son évolution dans le temps le plus net possible sans perturbation des mesures.

Des mesures d'angles de goutte consécutives au centre des pastilles sont réalisées afin d'étudier une évolution de ces mesures en fonction du temps. Une série de

polissage/nettoyage de plusieurs pastilles Ech nous a permis d'observer les premiers résultats en faisant varier la manière de polir les différents échantillons. Ces différentes manières de polir sont les suivantes : sans bouger (sb), en cercle (O), en formant un huit (8) et en quatre points (4pts) cités dans le chapitre II. Les tailles de grains pour les disques de polissage sont ici de 7 μm (#2000) et pour certains un second polissage avec une taille de grain 4 μm (#4 000).

Dans un premier temps, cela a été appliqué au pastilles Ech. Les allures sont présentées dans la figure ci-dessous réalisée à l'aide du goniomètre portatif.

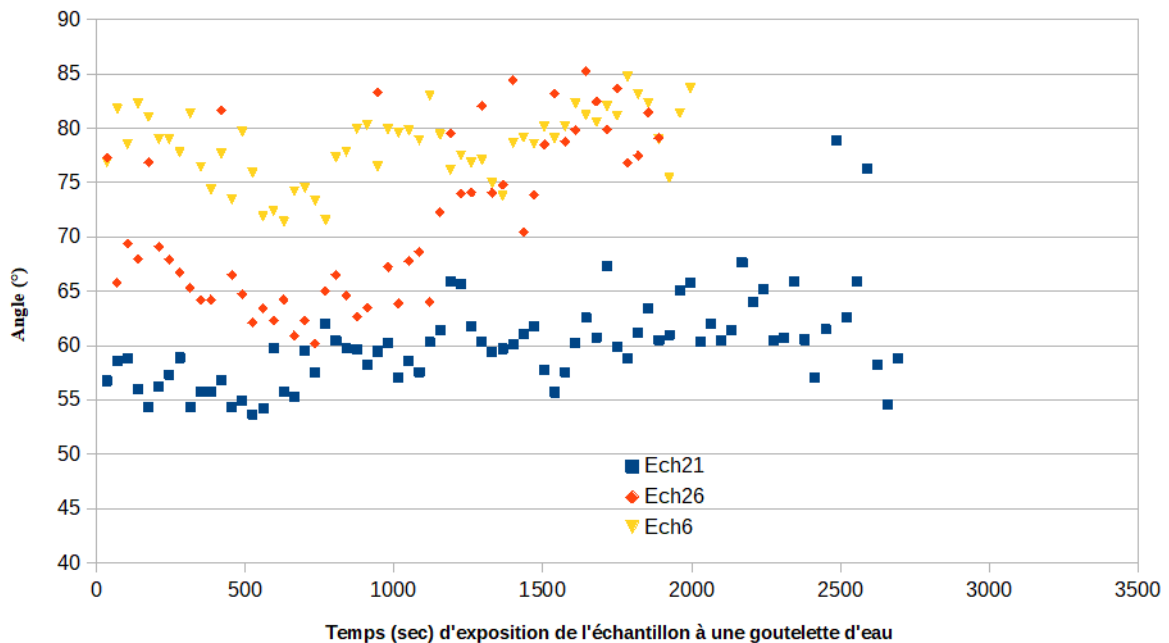


Figure 19: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur 3 pastilles Ech polies à #2000.

Pour ces premiers résultats d'angles de goutte, les trois échantillons étudiés comportent des résultats différents. Leurs valeurs d'angles initiales sont très différentes avec 82°, 56° et 65° pour Ech6, Ech21 et Ech26 respectivement. Leur évolution dans le temps est très chaotique avec des valeurs qui oscillent. Un polissage irrégulier entre les différentes pastilles peut être à l'origine de cette grande disparité. Le fait de devoir également retirer le goniomètre et de le repositionner à chaque fois entraîne certainement des problèmes de lectures ainsi qu'un dépôt qui n'est pas exactement au même endroit que la précédente goutte. Ceci est corrigé par la suite en veillant à adopter le même placement du goniomètre sur le support.

Une série de polissage/nettoyage de 6 pastilles Ech nous a permis d'observer des premiers résultats en faisant varier la manière de polir des différents échantillons (voir figure 20).

Dans l'ordre croissant de numérotation des pastilles Ech, les différents polissages sont sb, O, 8, 4pts, 4pts/4 μm et 8/4 μm . Une variation est observable entre les échantillons dès la première mesure d'angle avec des valeurs comprises entre 50° et 70°. En revanche, leur évolution dans le temps semble être identique avec une stabilisation à des valeurs plateaux, ces valeurs sont également comprises dans un intervalle de 60° à 70°. Les intervalles d'oscillations des valeurs consécutives pour un même échantillon sont réduits, permettant de mieux observer la stabilisation des valeurs au fil des mesures.

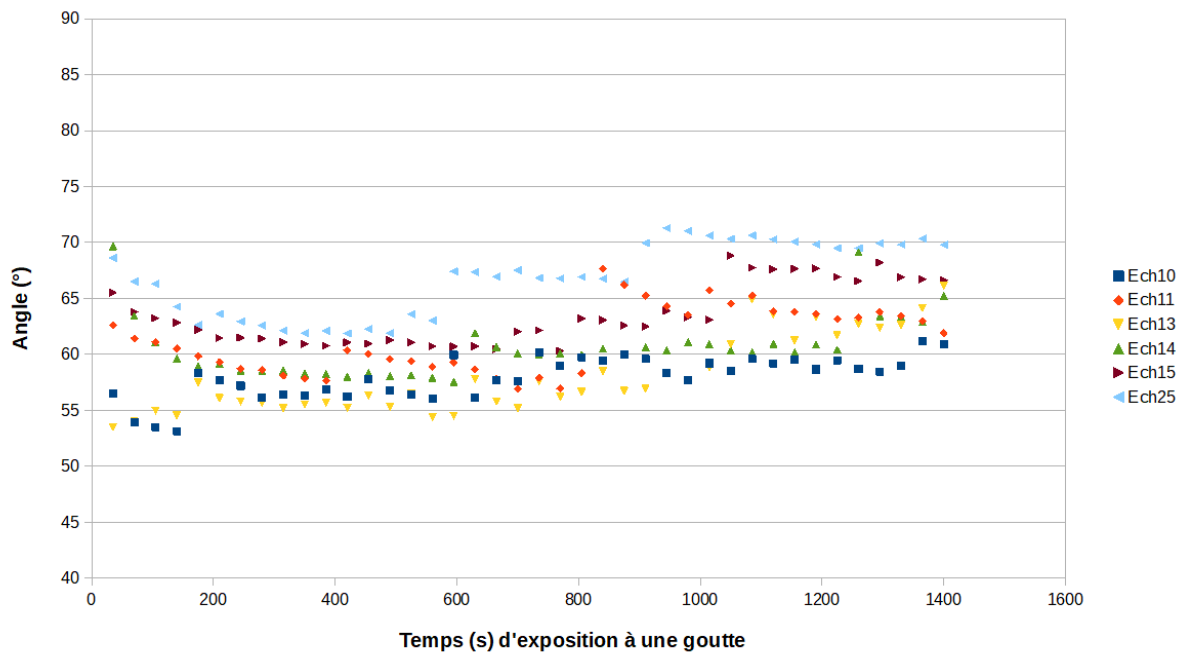


Figure 20: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur 6 pastilles Ech

D'autres pastilles Ech ont été polies par paires cette fois-ci pour aider à mieux appréhender l'impact de l'étape de polissage sur les mesures d'angles. Les résultats sont présentés dans les figures suivantes.

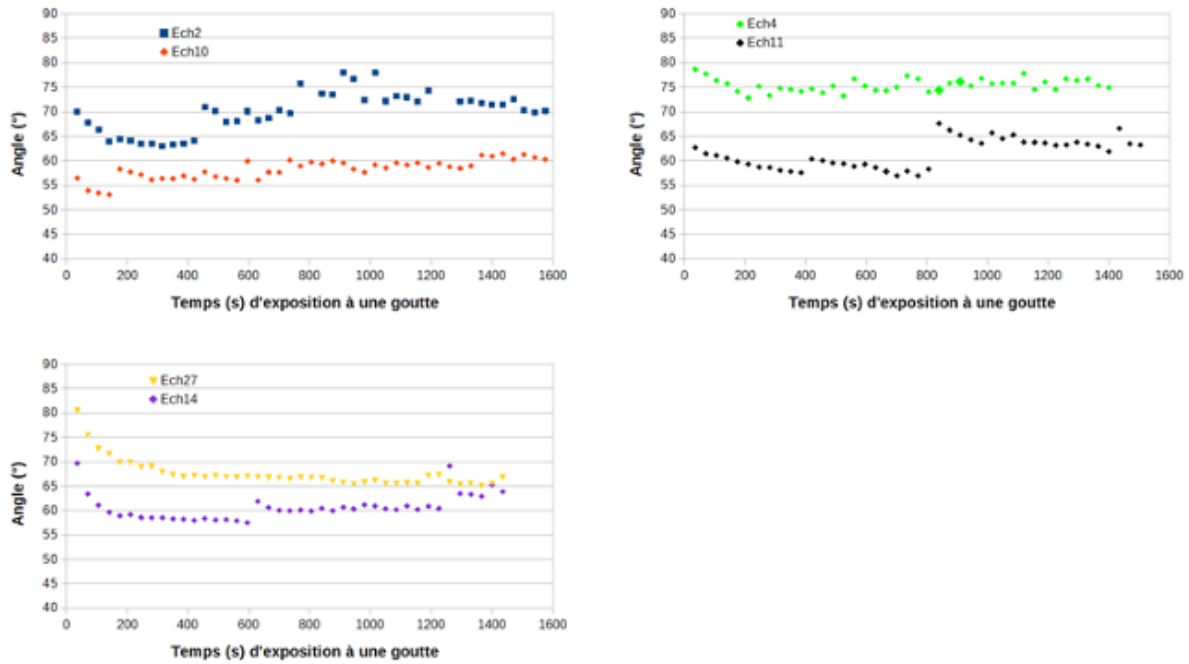


Figure 21: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps de 6 pastilles Ech polies par paires. Ech2/10 polies sb, Ech4/11 polies en (O) et Ech14/27 polies 4pts.

Comme on peut le constater en comparant les allures des courbes précédentes, la technique de polissage n'est a priori pas à mettre en cause. En prenant comme exemple Ech2 et Ech10 qui ont été polis sans bouger (sb), un écart de 12° pour les valeurs initiales est observé. Cette différence est alors conservée tout au long des mesures. Une même constatation peut être faite pour Ech4 et Ech11 ainsi que Ech14 et Ech27 qui ont été polis en cercle (O) et en quatre points (4pts) respectivement. A ce stade, les mesures de répétabilité dans le temps ont été améliorées avec des variations entre deux valeurs consécutives faibles (inférieur ou égal à l'erreur de la machine qui est de $\pm 5^\circ$). En revanche, les valeurs initiales restent assez élevées. C'est ce que l'on va chercher à améliorer maintenant en comparant les différentes techniques de polissage avec une même taille de grain de $4 \mu\text{m}$. C'est cette taille de grain qui nous a permis d'observer le moins de saut de valeur pendant les mesures d'angles de goutte dans le temps entre deux valeurs consécutives.

Cette étude a été étendue aux pastilles HA. Une pastille Ech et une pastille HA sont associées pour subir les mêmes modes opératoires.

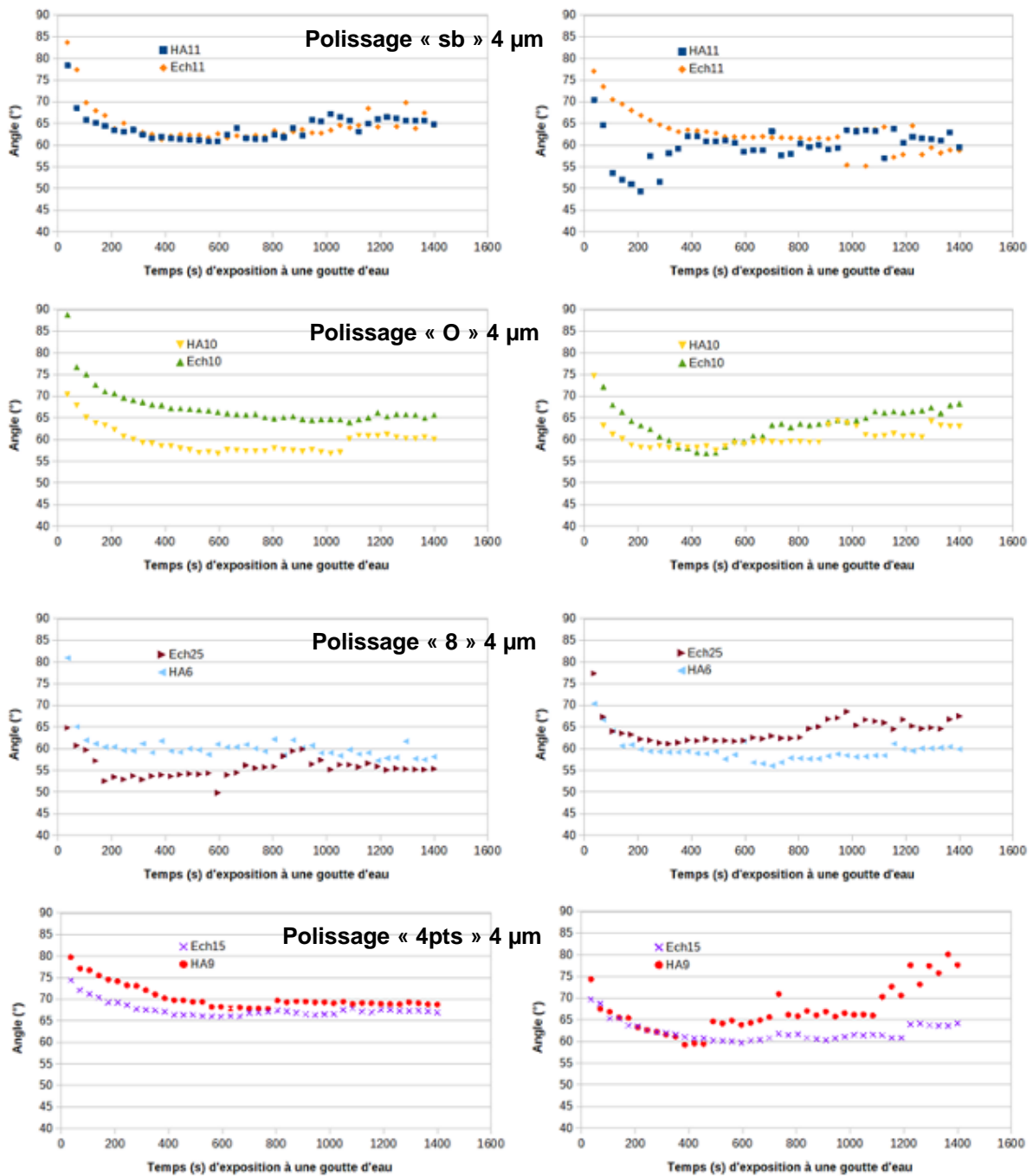


Figure 22: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur des paires de pastilles Ech et HA. Les graphiques de droites ont été obtenues avec des valeurs réalisées après un repolissage et nettoyage de la surface.

Ces paires de pastilles ont fait l'objet de mesures de répétabilité à une semaine d'intervalle, avec un repolissage et nettoyage identique au précédent. Dans chaque cas, il peut être constaté que les valeurs initiales d'une même pastille sont différentes d'une semaine à l'autre. Dans le meilleur des cas, pour Ech15 et HA9, ses valeurs sont différentes de 5°, ce qui peut rester compréhensible avec la marge d'erreur du

goniomètre. Toutefois, il peut être noté une plus grande différence pour HA11, Ech25 et Ech10 qui dépasse cette marge avec 9°, 12° et 18° respectivement.

Si l'on superpose ces courbes qui sont présentes dans la figure ci-dessous, une tendance à la stabilisation des valeurs est observable dans un intervalle de [55°-70°].

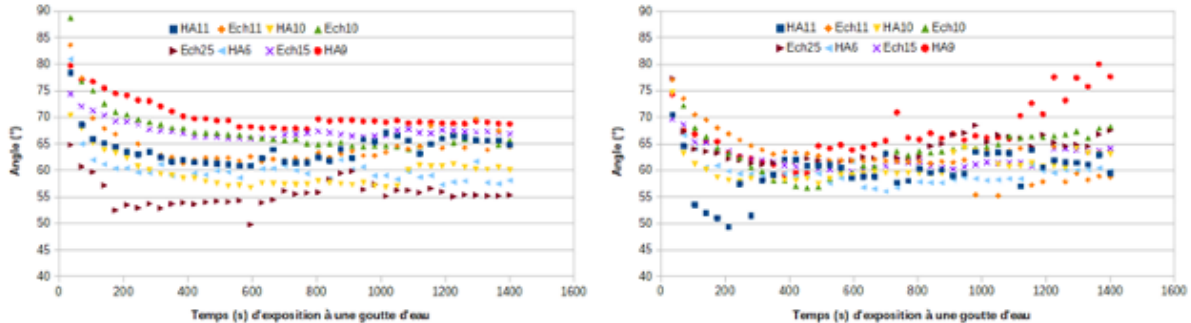


Figure 23: Regroupement des évolutions des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur les pastilles Ech et HA à différents polissages.

Si l'on écarte les résultats de HA9 pour le second polissage qui ont subi des perturbations durant les mesures, un comportement identique et reproductible est visible. Seules les valeurs initiales d'angles de goutte sont réparties sur un plus grand intervalle, induisant donc des différences sur les valeurs de stabilisation. On peut supposer que si l'on arrive à obtenir des valeurs initiales plus proches, cela conduira à une stabilisation des valeurs dans le temps dans un intervalle de valeurs plus faible également.

b) Corrélation avec la rugosité de surface

Des valeurs de profilométrie ont été récoltées sur des échantillons précédents. Une corrélation entre les valeurs d'angles et de rugosité pourrait permettre d'établir un lien afin d'obtenir une réponse quant à la variation des valeurs d'angles initiales.

Polissage sb	Moyenne de Ra (µm)	Moyenne de Rq (µm)	Polissage « O »	Moyenne de Ra (µm)	Moyenne de Rq (µm)	Polissage « 8 »	Moyenne de Ra (µm)	Moyenne de Rq (µm)	Polissage « 4pts »	Moyenne de Ra (µm)	Moyenne de Rq (µm)
Ech2	0,48	0,578	Ech4	0,09	0,11	HA8	0,04	0,05	Ech14	0,04	0,05
Ech10	0,10	0,13	Ech11	0,11	0,14	Ech13	0,10	0,13	Ech27	0,09	0,12
HA6	0,32	0,40	HA7	0,39	0,51				HA9	0,19	0,19
Polissage sb 4 µm			Polissage « O » 4 µm			Polissage « 8 » 4 µm			Polissage « 4pts » 4 µm		
HA11	0,07	0,09	HA10	0,07	0,09	Ech25	0,10	0,12	Ech15	0,06	0,07
HA11'	0,11	0,14	HA10'	0,11	0,14	Ech25'	0,08	0,10	Ech8	0,09	0,12
Ech11	0,06	0,08	Ech10	0,09	0,11	HA6	0,07	0,09	HA9	0,08	0,09

Tableau 6: Moyenne de rugosité à des localisations différentes pour plusieurs méthodes de polissage de pastilles Ech et HA.

A première vue, le polissage avec des tailles de grains de 4 µm permettrait d'obtenir une meilleure reproductibilité des valeurs de Ra et Rq ainsi que des valeurs plus faibles. Ces valeurs rendent compte d'un état de surface plus « lisse » qui permettrait

par la suite de considérer l'impact de la rugosité sur les mesures d'angles négligeable et ainsi se concentrer sur les autres paramètres qui pourraient intervenir.

Pour approfondir ce point, un polissage grossier d'échantillons est fait pour s'assurer du choix judicieux d'une taille de grain de polissage faible (4 μm). La taille de grains pour ces polissage grossiers est de 200 μm . Les valeurs mesurées sont présentes dans le tableau suivant.

Polissage 4 μm	Moyenne de Ra (μm)	Moyenne de Rq (μm)	Polissage 200 μm	Moyenne de Ra (μm)	Moyenne de Rq (μm)
HA2	0,10	0,07	HA5	0,44	0,55
Ech26	0,10	0,12	Ech28	0,47	0,58
HA7	0,06	0,08	HA8	0,47	0,57
Ech25	0,08	0,10	Ech18	0,52	0,64

Tableau 7: Rugosité à des localisations différentes pour des tailles de grains de polissage de 4 et 200 μm .

Une différence de valeur est notable entre les deux, avec toujours des valeurs de Ra et Rq aux alentours de 0,10 μm pour un polissage à 4 μm . Comme il était attendu en faisant un polissage avec des tailles de grains plus importantes, les valeurs de Ra et Rq ont augmenté pour être comprises entre 0,4 et 0,6 μm . La différence de morphologie de surface est également très visible en comparant un profil de rugosité de chaque cas.

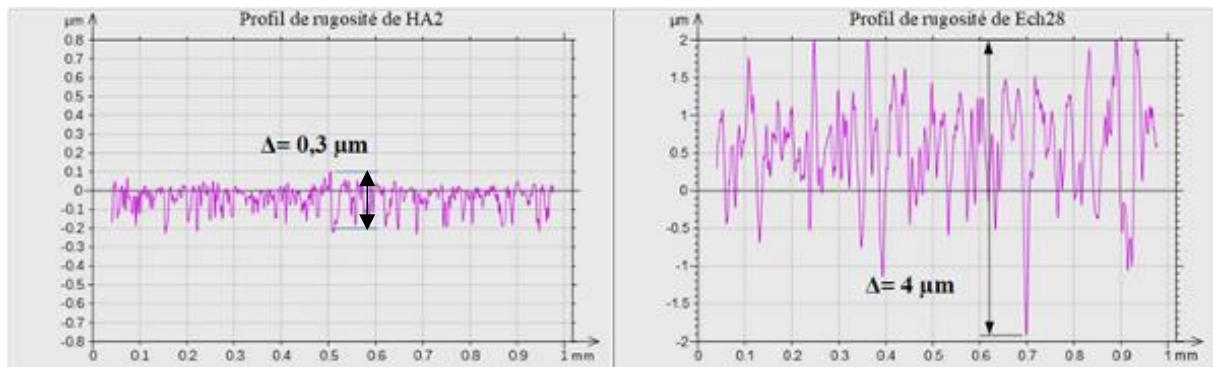


Figure 24: Profils de rugosité des pastilles HA2 et Ech28 qui ont été polies avec des tailles de grains de 4 μm et 200 μm respectivement.

Δ représente l'amplitude maximale de rugosité de l'échantillon, c'est-à-dire la différence entre les points de plus haute et plus basse altitude. On comprend donc bien que la surface de la pastille Ech28 polie à 200 μm comporte des écarts d'amplitude beaucoup plus importante avec un Δ plus de dix fois supérieur.

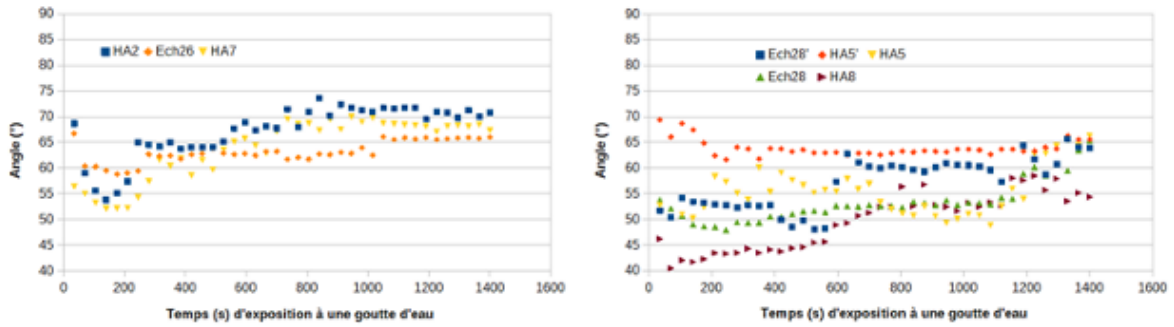


Figure 25: Evolutions des mesures d'angles de goutte en fonction du temps. A gauche pour un polissage à 4 µm et à droite pour un polissage à 200 µm.

Si l'on compare maintenant les évolutions des mesures d'angle de goutte en fonction du temps, la rugosité de surface ne semble pas influencer grandement la répétabilité des mesures. En effet, la stabilisation des valeurs dans le temps se fait toujours dans un intervalle de valeurs. Pour le polissage à 200µm, il est observé une tendance à la diminution des valeurs initiales d'angles de goutte qui se répercute sur l'intervalle de stabilisation qui passerait de [55°-70°] pour 4 µm à un intervalle de [50°-65°] pour 200µm. L'augmentation de rugosité de surface des échantillons n'est pas la cause d'une grande disparité de valeurs initiales d'angles de goutte. Elle augmente certes son intervalle en proposant sur certaines pastilles des valeurs plus faibles par rapport au polissage à 4 µm. En revanche, une évolution similaire dans le temps est observée dans les deux cas avec une augmentation progressive des valeurs d'angles de goutte jusqu'aux valeurs plateaux. Les éventuels sauts de valeurs au cours du temps sont dus à un dépôt de la goutte de la mesure suivante pas exactement au même endroit (exemple pour HA2 après 200 s et Ech28 en bleu à 600s).

c) Microscopie optique et MEB

La microscopie optique a été utilisée en premier lieu pour avoir un aperçu de la surface des échantillons. À la vue des résultats de profilométrie, on s'attend à une surface qui n'est pas lisse.

On observe bien une surface composée de vallées formées par des zones plus foncées plus élevées dans la figure 26.

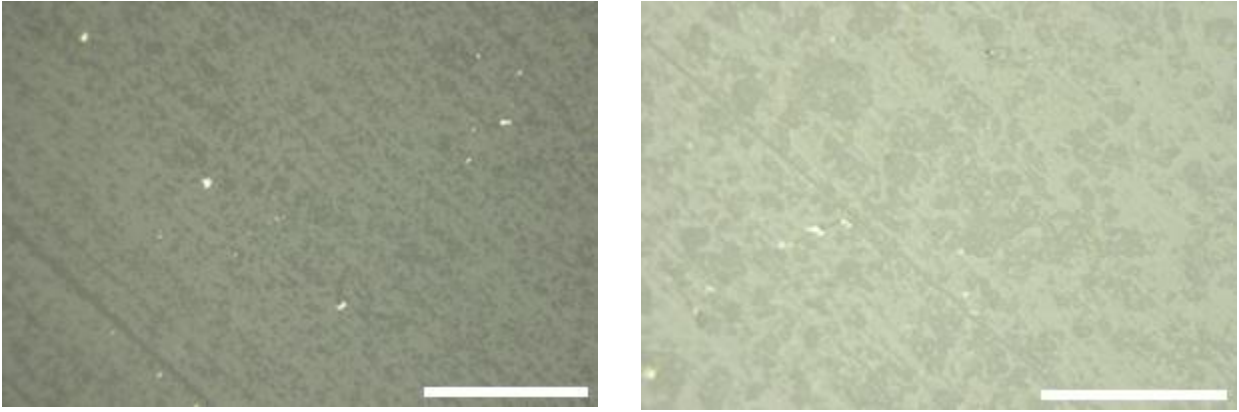


Figure 26: Images de microscopie optique d'une pastille HA (échelle de 200 μm à gauche et 50 μm à droite).

Des rayures de polissage sont également visibles ainsi que des points blancs, indiquant une pollution de surface de l'échantillon. Les différentes techniques de polissage montrent un état de surface identique comme on peut le constater sur la figure 27.

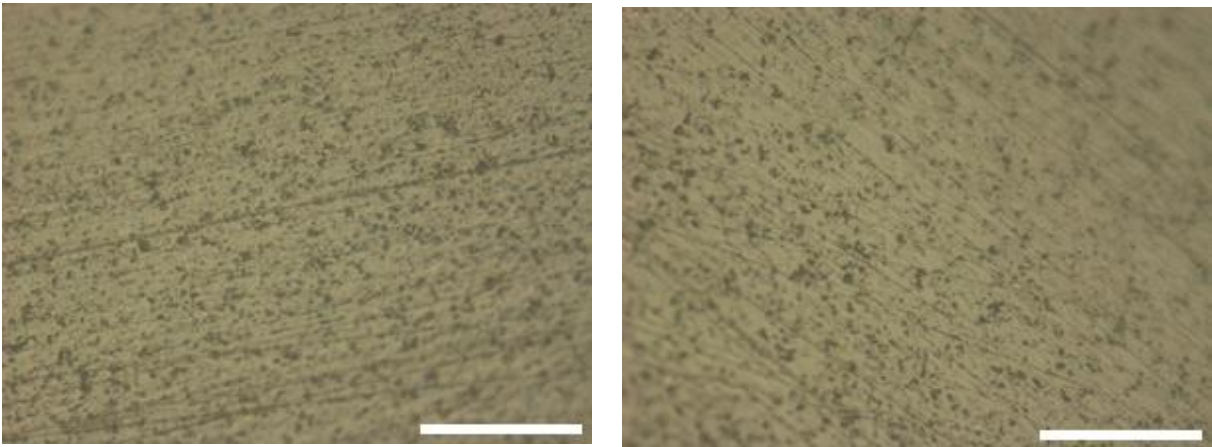


Figure 27: : Images par microscopie optique des surfaces de HA polie en (O) (à gauche) et HA polie en (8) (à droite), nettoyées (échelle de 200 μm).

Les tâches noires observées pouvant être une pollution de surface, différents temps de nettoyage au bain à ultrason ont été appliqués. Malgré des temps de 30 min mais également de 1 heure, ces tâches restent présentes en surface (voir figure 28).

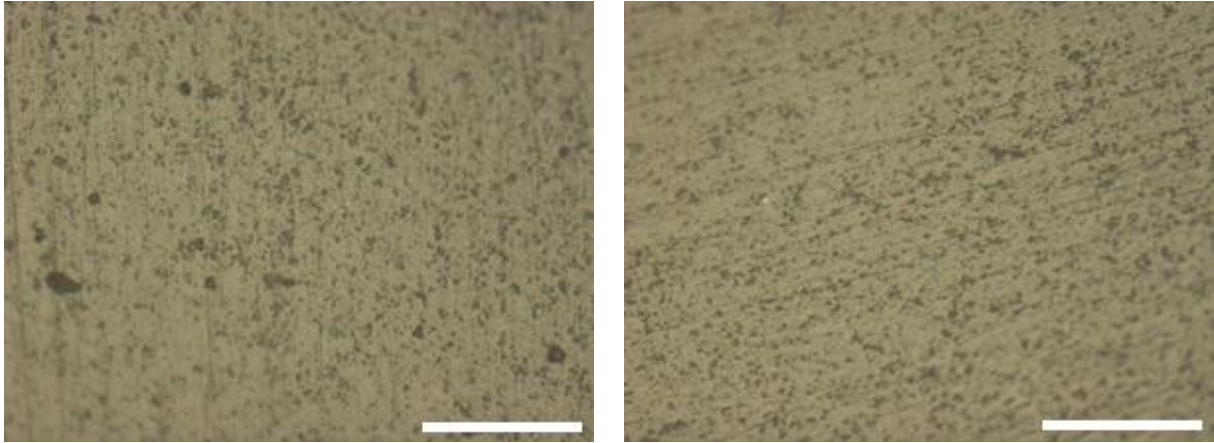


Figure 28: Images par microscopie optique des surfaces de HA pour des temps de nettoyage au bain à ultrason de 30min (à gauche) et d'une heure (à droite).

Pour un polissage sans bouger, on peut observer les raies de polissage qui sont orientées de la même façon et parallèles entre elles. Pour les polissages en (O) et en (8) dont une image pour chacun sont présentes sur la figure 29, les raies sont amenées à se superposer.

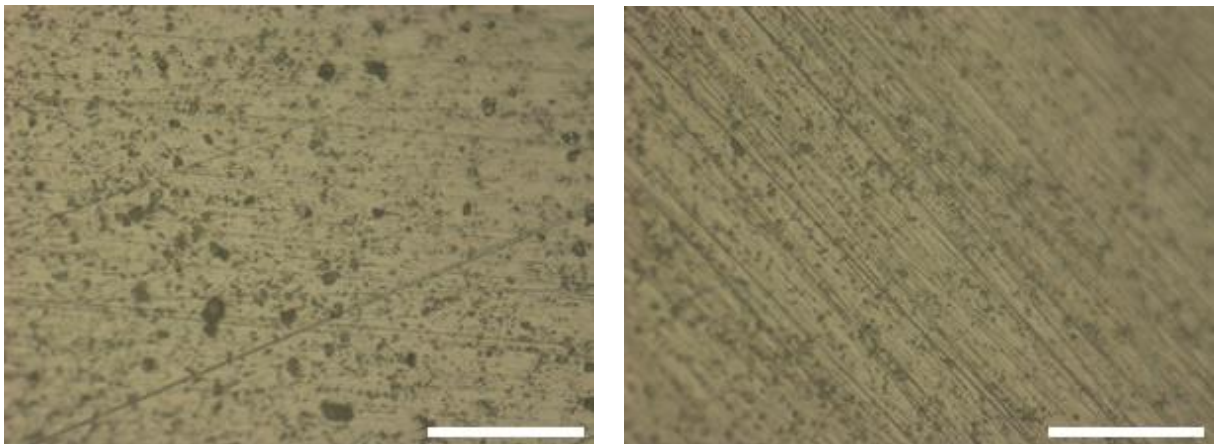


Figure 29: Images par microscopie en optique des surfaces de HA pour un polissage en cercle (à gauche) et en 8 (à droite).

Ces modes de polissage ont été étudiés dans un souci de mieux homogénéiser l'état de surface des échantillons. Or, les mesures de répétabilité sur ces différents polissages ne présentent pas de fortes distinctions les uns par rapport aux autres. Un déplacement sur les disques pendant l'étape de polissage peut vite conduire à une mauvaise manœuvre ou à une pression différente à certains endroits de la surface, favorisant l'inhomogénéité de celle-ci. Cela implique également un croisement des raies de polissage (figure 29) qui tend à encore plus marquer la surface et donc possiblement à augmenter son caractère aléatoire.

En réalisant des polissages avec des tailles de grains de 4 μm , la rugosité de surface peut être considérée par la suite comme un paramètre n'interférant pas dans les

mesures d'angles. On peut également se simplifier la tâche en ne polissant qu'avec la technique sans bouger car cela n'impacte pas grandement les résultats de rugosité finaux, de répétabilité d'angles de goutte et limite le caractère aléatoire des raies de polissage.

En analysant plus précisément la surface des échantillons à l'aide d'un MEB, on se rend compte que les précédentes tâches noires en microscopie optique induisent deux autres propriétés de surface, une possible porosité et le dépôt en surface de matière.

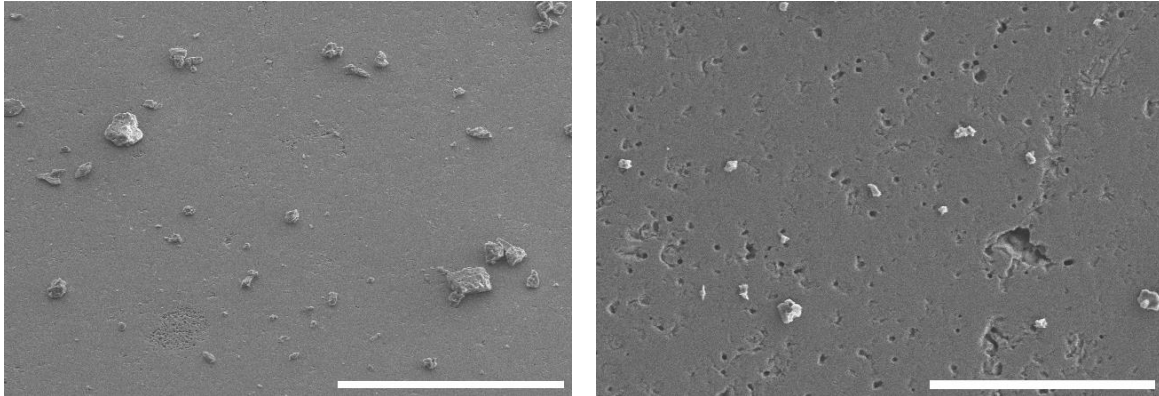


Figure 30: Images MEB en électrons secondaires de HA30 (à gauche) et de Ech14 (à droite) (échelle de 200 μm et de 50 μm respectivement).

Comme on peut le voir sur la figure 30, une pollution de surface des échantillons est observable par la présence de particules de tailles comprises entre 5 et une centaine de microns. Il est intéressant de noter que parmi elles, certains grains correspondent à de l'HA, cette dernière étant restée en surface après arrachage durant le polissage. Cette déduction est possible grâce au contraste induit par le détecteur des électrons secondaires pour la réalisation des images. Plus les éléments analysés sont lourds (par rapport à leur nombre atomique Z) plus ils ressortiront avec un contraste sombre sur l'image et inversement. Les « grains » clairs en surface sont donc des éléments légers qui la polluent de leur présence. En revanche, les grains de même contraste que le matériau sont de l'HA.

La pastille HA30 présente des zones sans matière à l'intérieur du matériau pouvant être assimilées à une porosité de surface, ce qui est une différence majeure entre les deux types de pastilles qui peut influencer grandement les mesures d'angles de goutte. Les images MEB de HA1 (figure 31) ci-dessous permettent d'écarter la possibilité

d'une porosité. Un effet de charge est observable à cause d'un dépôt de métallisation au chrome trop faible dans les premières analyses.

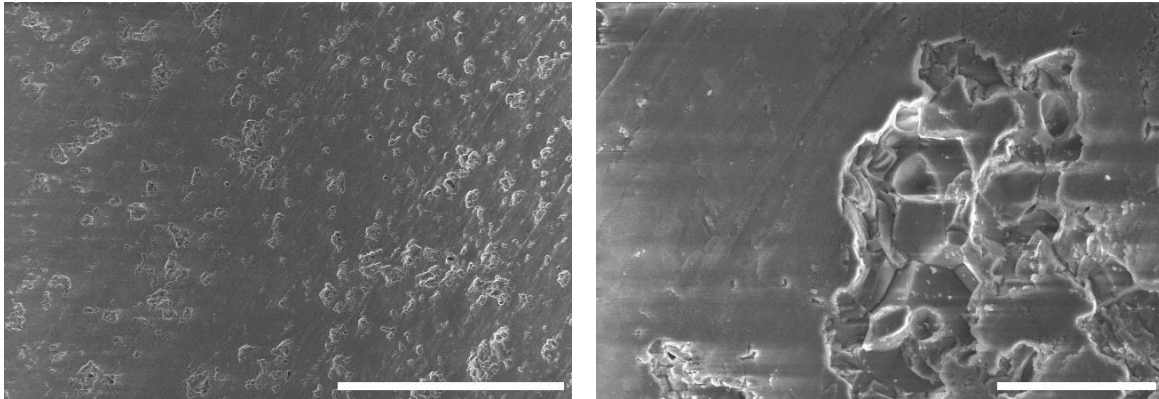


Figure 31: Images MEB en électrons rétrodiffusés de HA1 (échelle de 50 μm à gauche et de 5 μm à droite).

Ce que l'on pouvait prendre comme de la porosité se révèle être des zones où le polissage a arraché des morceaux de la surface. Cela conduit donc à des cavités sur toute la surface des échantillons.

On se tourne maintenant vers des techniques de caractérisation de la composition des échantillons pour comprendre l'origine de ce problème.

2. Composition et structure cristalline

a) Spectroscopie Infrarouge

Les spectres infrarouges rendent compte de la présence des principaux groupements de l'hydroxyapatite comme on peut le voir sur la figure 32.

La première caractéristique du spectre de l'HA est une forte et intense bande d'absorbance entre 1000 et 1100 cm^{-1} due au mouvement de vibration d'élongation des groupements PO_4^{3-} . Elle est accompagnée par celle entre 500 et 600 cm^{-1} qui correspond aux vibrations d'élongation des liaisons P-O. Les groupements -OH quant à eux sont observables grâce au pic et à la bande présents à 3750 et 456 cm^{-1} respectivement. On peut noter l'absence de ces pics sur les spectres de Ech3 et Ech20. Cela pourrait être dû à la substitution de la plupart des groupements hydroxyles. Toutefois, cela impliquerait une différence de phases entre les échantillons qui pourrait être la cause des problèmes de mesures d'angles de goutte initiales.

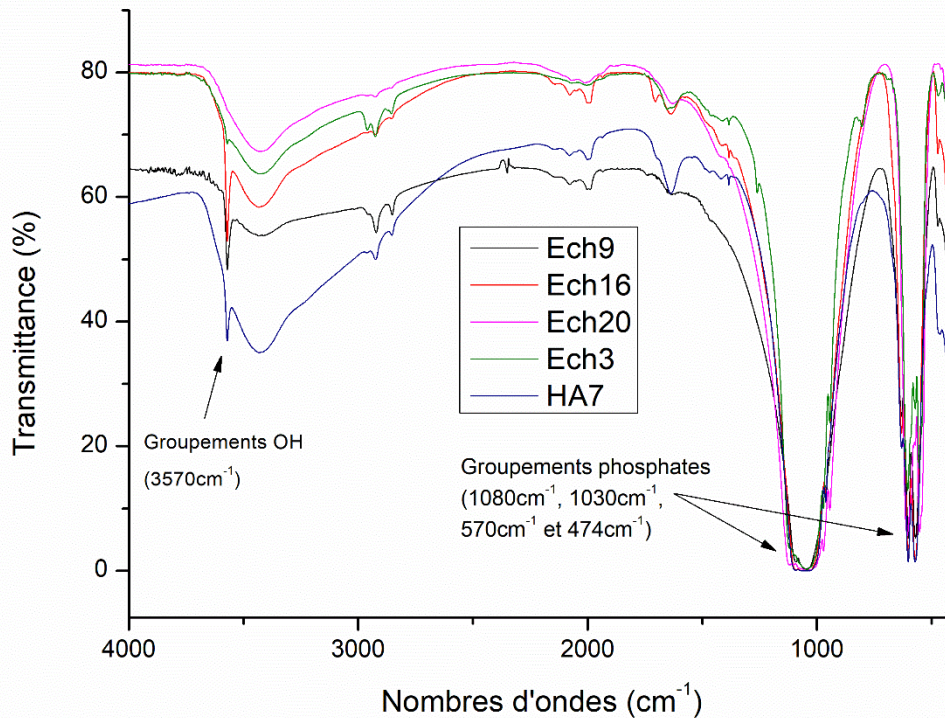


Figure 32: Spectres Infrarouge de différentes pastilles HA et Ech.

b) Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X est la technique qui permet de distinguer les phases cristallines en présence d'une poudre ou d'un solide cristallisé. Dans notre cas, elle va nous permettre d'identifier la phase cristalline de l'hydroxyapatite des échantillons mais également de détecter la présence ou non d'une autre phase, le β -TCP. Cette dernière est une phase qui entre en compétition avec celle de l'HA lors de l'étape de frittage. Comme vu précédemment (Chap Chapitre I:C.3, figure 3), elle se forme à des températures de l'ordre de $1\ 000^{\circ}\text{C}$.

Les diffractogrammes de différentes pastilles Ech et HA sont présentés dans la figure 33.

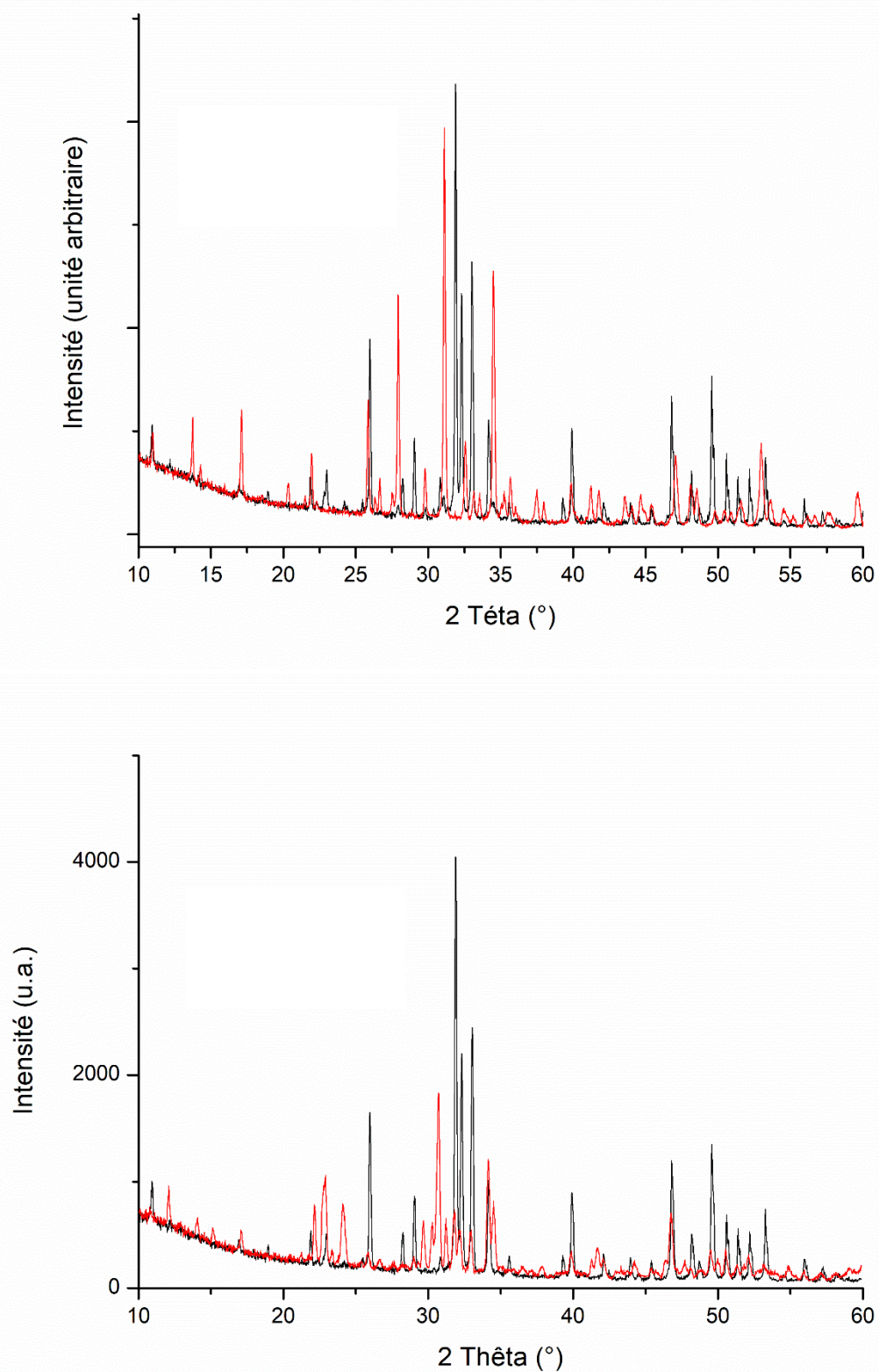


Figure 33: Diffractogrammes des pastilles Ech9, Ech20, HA9 et HA11 qui comprennent les pics de plus grandes intensités de la phase cristalline d'HA.

En comparant les différents diffractogrammes de tous les échantillons qui ont fait l'objet d'expérimentations, il paraît évident que certaines pastilles ne sont pas uniquement de l'HA pure. L'Ech 9 peut être pris comme référence, ayant été identifié à 100% comme une phase d'HA cristalline pure. On remarque que l'échantillon Ech20 qui faisait partie du même lot comporte des pics de diffractions nettement différents. Son pic de plus grande intensité se situe à $\theta = 31^\circ$. Ce pic ainsi que la majorité des autres correspondent à la phase cristalline du β -TCP. Le pic le plus intense pour la phase cristalline de l'HA situé à $\theta = 31,8^\circ$ n'est pas présent pour l'Ech20 ainsi que nombres d'autres pics, révélant une phase de β -TCP majoritaire. Si l'on compare maintenant les pastilles HA9 et HA11, HA9 est identifié comme une phase cristalline d'HA et se superpose parfaitement avec le diffractogramme de Ech9. On remarque encore une fois une différence de phase avec HA11 qui cette fois comporte les pics caractéristiques de l'HA mais avec une faible intensité. Ce qui indique une présence d'une phase cristalline d'HA en minorité avec une phase cristalline de β -TCP mais également certains pics non présents sur l'Ech20 aux alentours de $\theta = 31^\circ$. Ces pics sont de trop faible intensité pour pouvoir déterminer la présence d'une potentielle troisième phase.

Il est donc observé une grande disparité de phase entre les échantillons étudiés avec une phase β -TCP présente dans des pastilles qui est certainement due à un problème de température durant la phase de frittage des pastilles. Les mesures d'angles de goutte nous montrent une grande disparité des mesures initiales, elles peuvent donc être influencées par ce paramètre. Toutefois, on peut également garder à l'esprit qu'entre deux expériences, ces valeurs peuvent changer également (voir figure 23, mesures d'angles de HA9). Il n'est pas à exclure que l'homogénéité de la pastille ne soit pas la même sur toute son épaisseur. On ne peut pas conclure sur cela avec les pastilles Ech et HA car il a été retrouvé la même phase cristalline pour Ech 9 et HA9 qui possèdent une bonne épaisseur ainsi qu'une faible épaisseur respectivement. Cette étude sera menée sur les lots HAG.

B. Sensibilité des surfaces de pastilles HAG au stockage

Comme expliqué dans le chapitre II, la comparaison des résultats sur les pastilles se fait avec l'utilisation de lames de verre (LV) de référence. Les mesures d'angles de goutte sur ces dernières ne seront donc pas influencées par les changements de température.

1. Stockage en étuve

Pour étudier l'effet du stockage en étuve, des lames de verre de microscope standard sont préparées dans les mêmes conditions que les pastilles. Pour commencer les lames de verre (LV) LV5 et LV6 ont été nettoyées au bain à ultrason dans du THF sans polissage de la surface alors que LV7 et LV8 ont été polies puis nettoyées au bain à ultrason dans du THF. Les mesures d'angles de goutte ont été réalisées sans temps de stockage après avoir séché les surfaces sous un flux d'azote. Les valeurs présentées dans le tableau 8 sont une moyenne de 7 valeurs prises à différents endroits des lames.

	LV5	LV6	LV7	LV8
Moyenne thêta (°)	33	34	38	40
Écart type thêta (°)	4	5	2	3

Tableau 8: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de LV5 et LV6 non polies ainsi que LV7 et LV8 polies.

Il est observé une petite augmentation des valeurs avec le polissage mais cela reste dans la marge d'erreur de plus ou moins 5° de la machine.

LV5 et LV7 sont polies, nettoyées puis subissent une série de mesures d'angles de goutte afin d'observer ou non une différence entre les valeurs après plusieurs polissages et nettoyages consécutifs. Le tableau ci-dessous répertorie les valeurs obtenues.

	LV5	LV5_1	LV5_2	LV7	LV7_1	LV7_2
Moyenne thêta (°)	33	38	43	38	30	41
Écart type thêta (°)	4	3	2	2	6	2

Tableau 9: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de LV5, LV7 ainsi que 2 polissages et nettoyages consécutifs entre les nouvelles mesures.

Si l'on compare ces valeurs à celles des pastilles étudiées qui sont comprises entre 40° à 90°, les valeurs initiales de LV sont bien plus reproductibles. Le problème ne vient donc pas du protocole de polissage et de nettoyage mais du stockage en étuve. C'est donc la détermination de l'impact de l'étuve qui va suivre pour les LV. Après application du protocole de polissage et de nettoyage des surfaces, LV15 et LV16 sont placées en étuve à 80°C pendant 24 heures, différentes mesures sur la surface sont conduites. Elles sont à nouveau remises en étuve pour cette fois-ci une durée de 6 jours. Les résultats sont présentés dans le tableau 10.

	LV15	LV16	LV15 remis en étuve	LV16 remis en étuve
Durée de stockage	24h		6 jours	
Moyenne thêta (°)	40	39	40	41
Écart type thêta (°)	2	1	6	3

Tableau 10: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de LV15 et LV16 pour des temps de stockage en étuve de 24 heures et 6 jours.

Si un temps de 24 heures n'a pas eu de fort impact sur les mesures par rapport à celles sans temps de stockage, il est observé une augmentation des valeurs d'écart type pour un temps en étuve plus long. Cela rend compte d'un petit effet de l'étuve sur les lames de verre qui sont un standard bien défini. Le temps de stockage en étuve impacte donc légèrement la répétabilité des mesures sur les surfaces de lames de verre.

La même étude est maintenant conduite sur les pastilles HAG30, HAG31, HAG32 et HAG33. Tout d'abord pour des temps faibles en étuve allant de 30 minutes à 2 heures, puis pour des temps plus longs de 20 heures consécutifs. Les valeurs sont prises à 5 endroits différents de la surface comme indiqué sur la figure 7. Les résultats obtenus sont visibles dans le tableau 11 et le tableau 12.

	HAG30	HAG30_1	HAG31	HAG31_1	HAG32	HAG32_1	HAG33	HAG33_1
Durée de stockage	30 min	30 min	1h	1h	1h30	1h30	2h	2h
Moyenne thêta (°)	43	62	39	59	36	81	35	85
Écart type thêta (°)	3	1	8	2	4	1	4	3

Tableau 11: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles. Il y a eu repolissage et renettoyage puis remise en étuve entre les pastilles HAGx et HAGx_1.

	HAG30	HAG31	HAG32	HAG33
Durée de stockage	20h			
Moyenne thêta (°)	74	78	80	64
Écart type thêta (°)	14	7	5	8

Tableau 12: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles pour un temps de stockage en étuve de 20 heures.

Si les résultats sont comparables pour des temps de stockage allant jusqu'à 2 heures, il y a une augmentation des valeurs de plus de 30° ainsi que des écart types pour des temps de stockage de 20 heures. Un temps de stockage d'un mois a été réalisé pour accentuer le phénomène à son maximum. Des angles initiaux de 90 à 95° ont été obtenues, permettant de renforcer les doutes. Ces résultats laissent à penser que le stockage en étuve n'est pas la meilleure solution pour conserver les pastilles dans le temps en attendant de procéder à d'autres expériences.

2. Stockage à l'air libre

Comme vu précédemment, la surface d'HA est susceptible d'interagir avec bons nombres d'atomes qui contribuent à modifier la surface. Les surfaces des pastilles HAG41 et HAG44 ont été préparées afin de confirmer qu'un moyen de stockage est nécessaire pour obtenir des valeurs identiques entre les échantillons. HAG41 et HAG44 ont été laissées à l'air atmosphérique dans ce but. Les résultats sont disponibles dans le tableau 13.

	HAG41	HAG44	HAG41	HAG44
Temps à l'air	1 jour		2 jours	
Moyenne thêta (°)	50	52	62	76
Écart type thêta (°)	4	7	7	4

Tableau 13: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles. Pastilles laissées à l'air libre 1 jour et 2 jours.

Si la différence est raisonnable après une attente de un jour à l'air, ce n'est plus le cas pour 2 jours. Si l'on veut pouvoir conserver les propriétés de surfaces plus longtemps, une « protection » doit être mise en place. Pour ce faire, deux solutions ont été étudiées. La première est une immersion de la pastille dans un volume d'eau distillée et la seconde est l'utilisation d'une enceinte sous vide.

3. Immersion dans l'eau

Pour le stockage en milieu aqueux, les pastilles sont donc immergées dans un volume d'eau distillée jusqu'à leur utilisation. Avant les mesures, un flux d'azote est utilisé pour retirer l'excès d'eau en surface. Plusieurs pastilles sont préparées puis stockées dans un volume d'eau distillée. Les valeurs des expériences sont notées dans le tableau ci-dessous.

	HAG27	HAG21	HAG28	HAG27_1	HAG29	HAG28_1
Temps dans l'eau	5h	7h	24h	29h	48h	48h
Moyenne thêta (°)	37	39	35	55	49	44
Écart type thêta (°)	4	3	3	4	2	4

Tableau 14: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles. Pastilles conservées immergées dans un volume d'eau distillée pendant différents temps.

Les valeurs d'angles de goutte initiales sont reproductibles pour des temps de stockage jusqu'à 24 heures. Il est observé une augmentation après des temps de stockage de 2 jours, ce qui n'est pas un temps assez long pour s'assurer de pouvoir réaliser les prochaines étapes d'irradiations. Il est également à noter que les valeurs d'écart type des angles de goutte mesurés sont proches de la valeur de marge d'erreurs du goniomètre.

4. En dessiccateur sous vide

Pour le stockage dans une enceinte sous vide, un dessiccateur relié à une pompe à vide a été utilisé. Des pastilles d'HA ont été préparées pour ces tests avec des temps de stockage plus ou moins longs. Les résultats sont présents dans le tableau 15.

	HAG30	HAG19	HAG31	HAG32	HAG33	HAG10
Temps dessiccateur sous vide	4h30	7h	22h	48h	6 jours	2 mois
Moyenne thêta (°)	34	41	34	35	41	77
Écart type thêta (°)	3	5	4	4	1	3

Tableau 15: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles HAG. Pastilles stockées en dessiccateur sous vide pendant différents temps.

Les résultats obtenus sont très intéressants en ce qui concerne la reproductibilité entre échantillon comme expliqué ci-après. Le stockage en dessiccateur est très reproductible dans les valeurs d'angles de goutte initiales et ce même 6 jours après la préparation de la surface de HAG33. Les écarts types sont également raisonnables en ne dépassant pas la marge d'erreur de la machine de $\pm 5^\circ$. Ces valeurs d'angles de goutte initiales sont obtenues dès la fin du nettoyage en bain à ultrason. Si l'on sèche la surface avec un flux d'azote pour s'assurer de l'élimination du THF très volatile, les mêmes valeurs sont directement obtenues. Ce mode de stockage permet une bonne conservation de l'état de surface des pastilles préparées.

L'étude a été poussée sur les pastilles Ech et HA pour déterminer si ce nouveau mode de stockage nous permet également d'obtenir une bonne reproductibilité sur ce lot. A la vue des valeurs suivantes (tableau 16), une reproductibilité des valeurs d'angles de goutte initiales est donc même obtenue pour les pastilles sans historique. La méthode de stockage en dessiccateur sous vide est donc adaptée pour conserver les propriétés de surfaces des échantillons préparés. Il est intéressant de noter que les pastilles ne peuvent pas être stockées indéfiniment dans ces conditions. Après 2 mois de stockage, HAG10 présente des valeurs initiales supérieures de plus de 30° . Les 6 jours de stockage stable sont largement suffisants pour nos expérimentations. Le mode de préparation et de stockage des pastilles apporte un maintien des valeurs d'angles initiales relativement faible. Plus on se rapproche d'un état de surface superhydrophile ($\theta < 10^\circ$) et plus l'énergie de surface augmente (de Gennes, 1985). Ce protocole nous permet donc de travailler sur des surfaces déjà bien hydrophiles (tableau 15 et tableau 16), une surface étant hydrophobe pour des valeurs d'angles supérieures à 90° .

	HA2	HA8	HA12	HA13	HA8_1	Ech12_1
Temps dessiccateur sous vide	24h					
Moyenne thêta (°)	34	41	41	44	32	34
Écart type thêta (°)	1	4	2	2	2	2

Tableau 16: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles HA et Ech. Pastilles stockées en dessiccateur sous vide pendant un temps de 24h.

Il faudra réaliser les mesures de répétabilité d'angles de goutte sur les deux méthodes de stockage concluantes, en milieu aqueux et en dessiccateur sous vide, pour pouvoir déterminer laquelle est la plus adaptée à notre étude.

C. Caractérisation des pastilles HAG- β -TCP

Les pastilles étudiées dans cette partie sont issues d'un même lot fritté à partir de la même poudre spécialement pour les expériences de ma thèse. Dans un premier temps, 14 échantillons ont été fournis pour réaliser les mêmes caractérisations que précédemment afin de déterminer l'homogénéité du lot.

1. Composition et structure cristalline

a) Spectroscopie Infrarouge

Le spectre Infrarouge de HAG14 est disponible sur la figure 34. Il présente les bandes d'absorbances des groupements caractéristiques de l'HA à savoir les grandes bandes de vibrations de PO_4^{3-} mais également les pics à 3750 et 456 cm^{-1} représentatifs de la présence de groupements -OH. Ceux-ci ayant été absents dans certains spectres des pastilles Ech et HA.

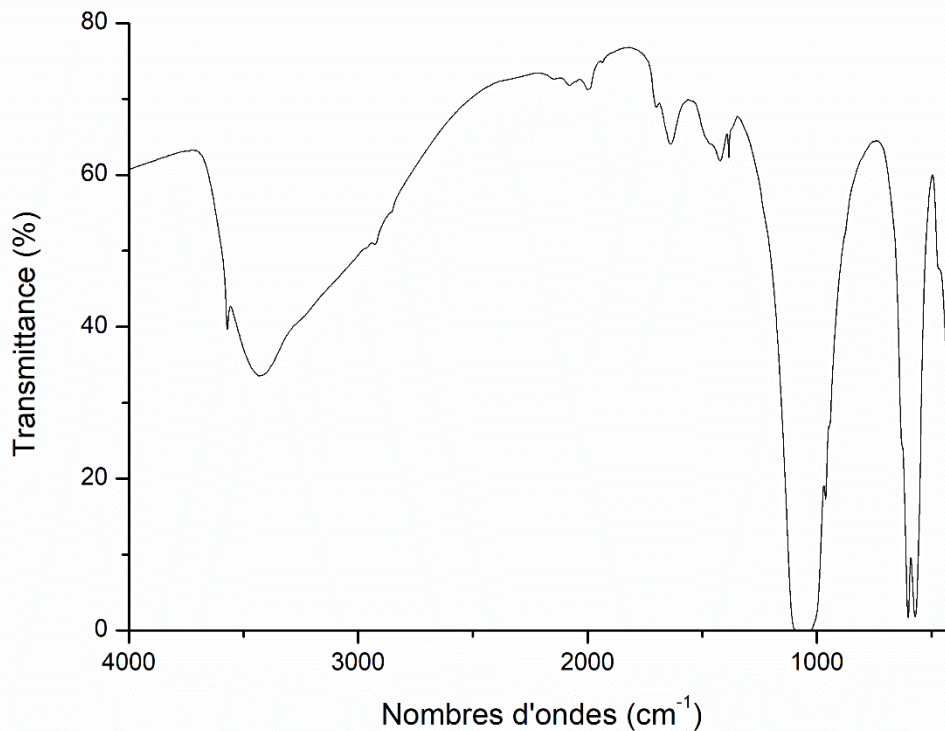


Figure 34: Spectre Infrarouge en transmittance de HAG14.

b) Diffraction des rayons X

La DRX de ces 14 échantillons a été conduite. On étudie tout d'abord les phases cristallines en présence. Une différence est déjà visible sur les deux premiers échantillons qui n'ont pas subi de préparation de surface par polissage. La phase cristalline majoritaire des deux pastilles est bien l'HA. Cependant, HAG2 présente les pics d'une seconde phase qui est celle du β -TCP (voir figure 35). HAG1 quant à elle, présente uniquement la phase cristalline de l'HA sur son diffractogramme mais avec une légère « bosse » à $2\theta = 31^\circ$. HAG1 est la pastille qui comporte le pic le plus faible en intensité du lot. On part donc du principe que les pastilles qui comportent une trop grande différence d'intensité de ce pic avec HAG1 comme des pastilles avec la présence d'un pourcentage de β -TCP.

On peut classer les 14 échantillons en deux groupes, ceux qui à priori n'ont pas de phase β -TCP qui sont HAG1, HAG3, HAG4 et HAG13 et toutes les autres pastilles qui présentent donc une seconde phase minoritaire de β -TCP. HAG2 et HAG5 sont les échantillons qui présentent le plus de phases β -TCP avec la présence de 3 pics de différents plans. Sur les autres pastilles HAG, seul le plan (0 2 10) à $2\theta = 31^\circ$ est

présent avec une intensité beaucoup moins importante, révélateur d'une très faible proportion.

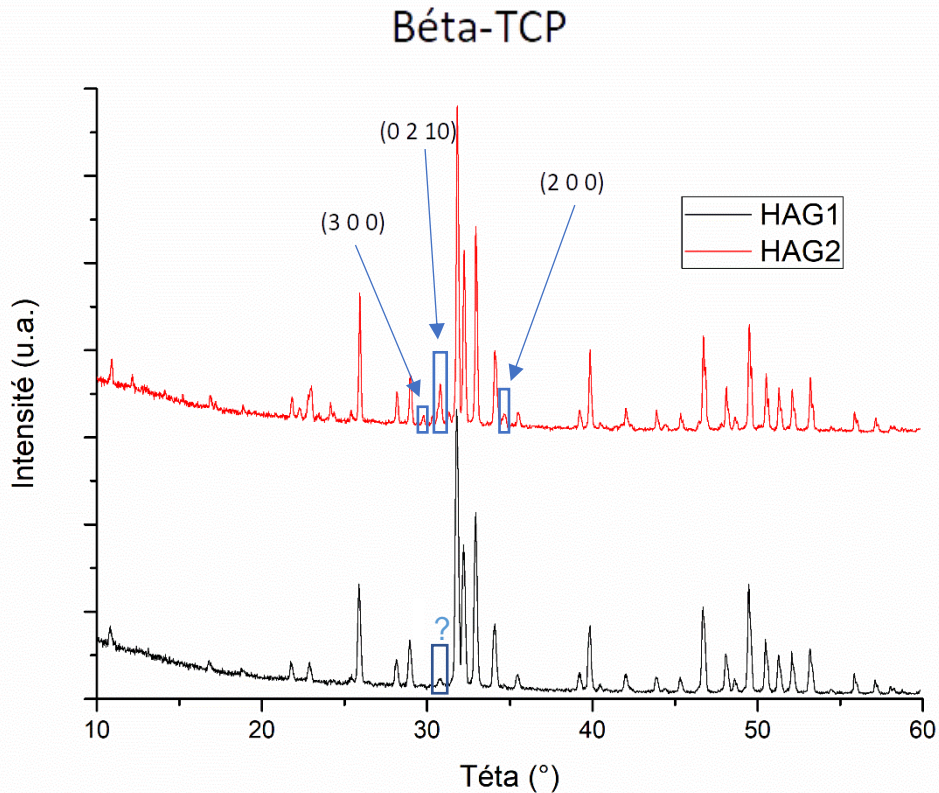


Figure 35: Diffractogrammes de HAG1 et HAG2 avec les pics des plans (300), (0210) et (200) de la phase β -TCP.

Une possible formation de β -TCP résiduelle en surface des échantillons à la fin du frittage peut être la cause de cette présence. En réduisant l'épaisseur des échantillons par polissage, nous allons réaliser une nouvelle analyse DRX au cœur des échantillons afin de savoir si le β -TCP est également présent en leur sein. Plusieurs expériences ont été faites et toutes ont donné les mêmes résultats que le suivant sur HAG5 qui a été poli pour diminuer son épaisseur d'un quart noté HAG5'. Si l'on compare les diffractogrammes de HAG5 et HAG5' (voir figure 36), il peut être observé une différence d'intensité du pic caractérisant le mieux la phase β -TCP à savoir le plan (0 2 1 0) à $2\theta = 31^\circ$. On peut observer une baisse de l'intensité du pic pour HAG5' donc une présence moins importante de la phase β -TCP à l'intérieur du matériau. En ce qui concerne les pastilles sans β -TCP (HAG1, ...), les diffractogrammes restent inchangés et superposables.

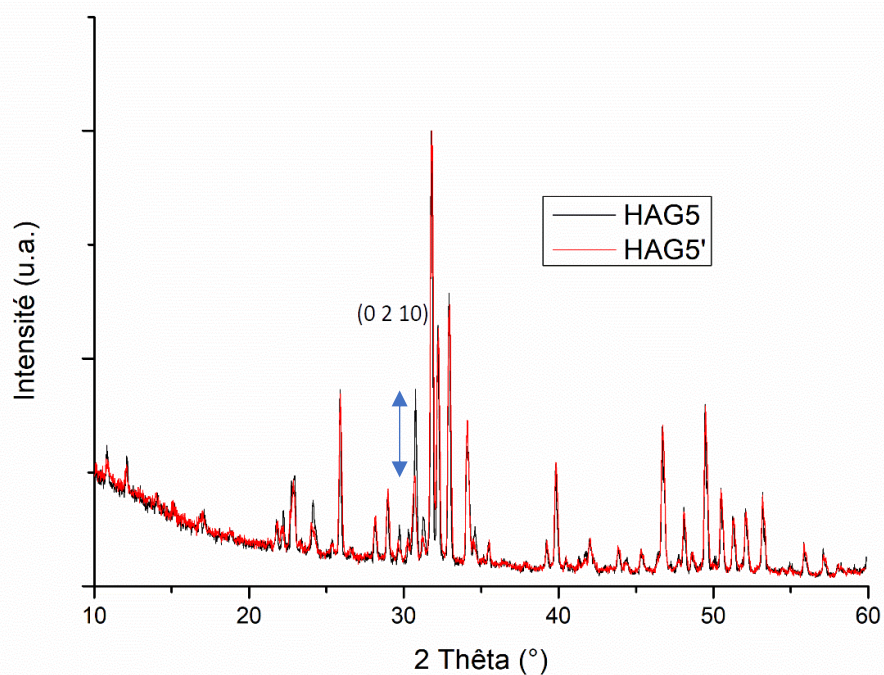


Figure 36: Diffractogrammes de HAG5 et HAG5' normalisés. Observation de la diminution de l'intensité du pic de la phase de β -TCP.

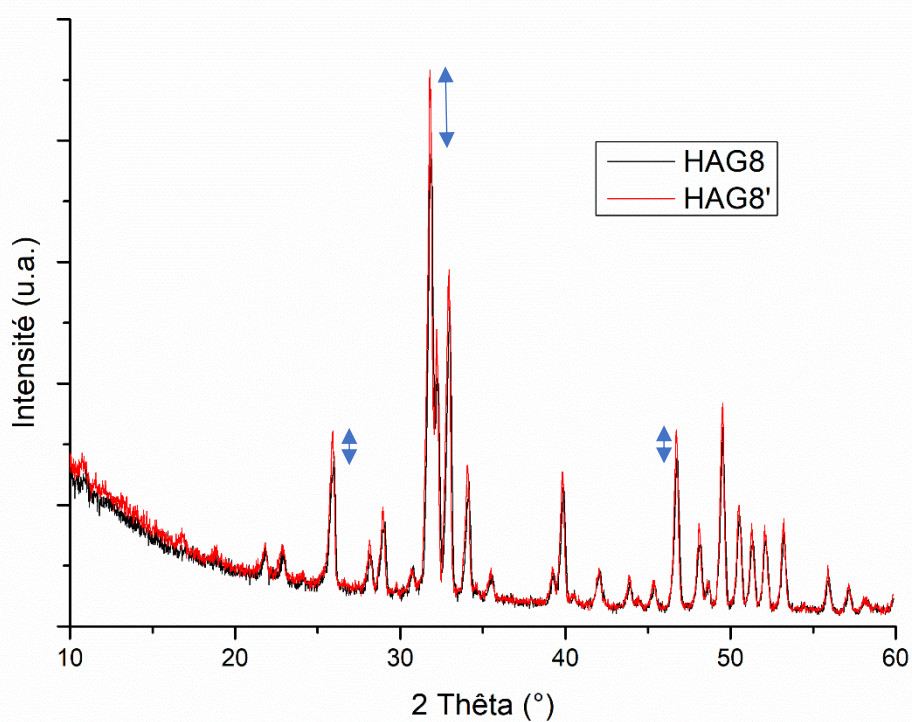


Figure 37: Diffractogrammes de HAG8 et HAG8' normalisés. Observation de l'augmentation de l'intensité des pics de la phase HA sans modification du pic de la phase β -TCP.

Les pastilles avec un faible pic de β -TCP (mais plus intense que HAG1) vont, après avoir subi un polissage diminuant leur épaisseur d'un quart, voir l'intensité des pics de la phase HA (comme celui du plan (300) à 29°) augmenter sans modification du pic de β -TCP. Après une étape de polissage qui aplanit la surface, celle-ci est plus apte à diffracter correctement et présente donc de meilleures intensités de pics. Ce phénomène est observable pour HAG8 sur la figure 37. A l'inverse, HAG5' voit une diminution du pic de la phase β -TCP tout en conservant l'intensité du pic de la phase d'HA à 29° . L'intensité de pic de β -TCP reste toutefois nettement supérieure aux autres pastilles.

En utilisant la méthode de calcul du rapport Ca/P de la référence qui prend en compte l'intensité du pic du plan (0 2 10) de la phase β -TCP et le plan (210) de la phase d'HA (Raynaud et al., 2001), les rapports Ca/P ainsi que le pourcentage de β -TCP ont été calculés pour ces 14 pastilles. Ils sont rassemblés dans le tableau 17 suivant.

Pastilles	HAG1	HAG2	HAG3	HAG4	HAG5	HAG6	HAG7	HAG8	HAG9	HAG10	HAG11	HAG12	HAG13	HAG14
Ca/P	1,66	1,65	1,66	1,66	1,62	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66
% β -TCP	2,8	10,0	4,0	3,6	13,4	4,5	4,7	5,7	4,0	4,0	5,1	6,1	3,0	3,7

Tableau 17: Rapports Ca/P et pourcentage de la phase β -TCP du lot 1 après polissage des surfaces obtenus par DRX (Raynaud et al., 2001).

Les rapports calculés à partir des intensités des pics de la phase β -TCP à $2\theta=31^\circ$ et de la phase HA à $2\theta=29^\circ$ sont proches les uns par rapport aux autres. Une légère différence est notable pour HAG2 HAG5 qui montrent non pas un seul mais 3 pics de la phase. Les pastilles ne sont pas composées à 100% d'HA mais comportent un pourcentage plus ou moins important de β -TCP. A part pour HAG2 et HAG5, l'intensité du plan (0 2 10) reste très faible et possiblement trop influencée par le bruit de fond des diffractogrammes pour permettre une lecture d'intensité de pic fiable. Les valeurs de rapports Ca/P de 1,66 sont donc possiblement faussées par le bruit de fond. Si l'on regarde le diffractogramme de la fiche ICDD de l'apatite-(CaOH) présenté ci-après, on peut remarquer une légère montée en valeur du bruit de fond à $2\theta=31^\circ$. Une valeur de rapport Ca/P égale à 1,67 ne peut être calculée, elle est déduite par la non-présence de pics caractéristique de la phase cristalline de β -TCP.

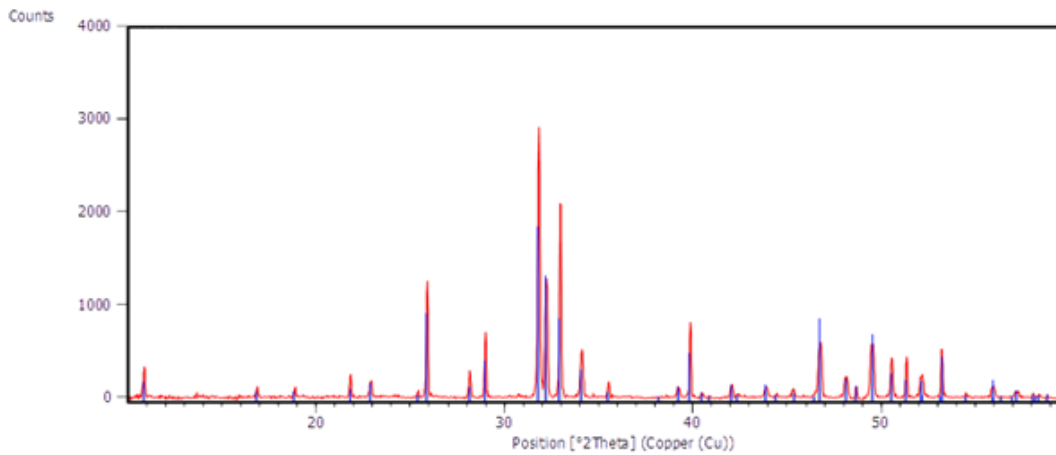


Figure 38: Fiche ICDD 96-901-0052 de l'Apatite-(CaOH) qui attribue tous les pics de la phase cristalline obtenue.

Si l'on s'intéresse plus particulièrement à HAG5' et HAG8' dont les valeurs sont disponibles dans le tableau 18, le pourcentage de phase β -TCP n'est pas homogène dans tout le matériau. HAG5 qui comporte un pourcentage de β -TCP élevé égal à 25,9 % voit cette valeur diminuer à 13,4 % après diminution de l'épaisseur. Cela induit une augmentation de son rapport Ca/P de 1,62 à 1,64. La diminution du pourcentage de β -TCP est observé également pour les autres pastilles et illustrée à l'aide de HAG8'. A une échelle plus faible, le pourcentage de β -TCP diminue et passe de 6,2 % à 5,7 %, ce qui n'influence pas la valeur du rapport Ca/P qui reste à sa meilleure valeur mesurable à savoir 1,66%

Pastilles	HAG5	HAG5'	HAG8	HAG8'
Ca/P	1,62	1,64	1,66	1,66
% β -TCP	25,9	13,4	6,2	5,7

Tableau 18: Calcul des rapports Ca/P et du pourcentage de la phase β -TCP pour HAG5, HAG8 et leur diminution d'épaisseur d'un quart (Raynaud et al., 2001).

Une forte diminution est observée pour les pastilles qui comportent un fort pourcentage de phase β -TCP comme HAG5. Pour les autres, une légère variation est notable mais la précision des mesures n'est pas suffisante pour s'assurer également d'une diminution.

2. Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman a également été utilisée pour caractériser les échantillons et plus particulièrement la présence de la phase β -TCP. Son spectre est présenté sur la figure 39. Cette méthode qualitative ne nous permettra pas de déterminer les quantités de phases β -TCP présentes dans les échantillons. Toutefois, la détection de cette phase n'est possible qu'à partir d'un pourcentage de 2 à 3%. Ce qui permettra une

comparaison avec les autres techniques de caractérisation pour une discussion des résultats.

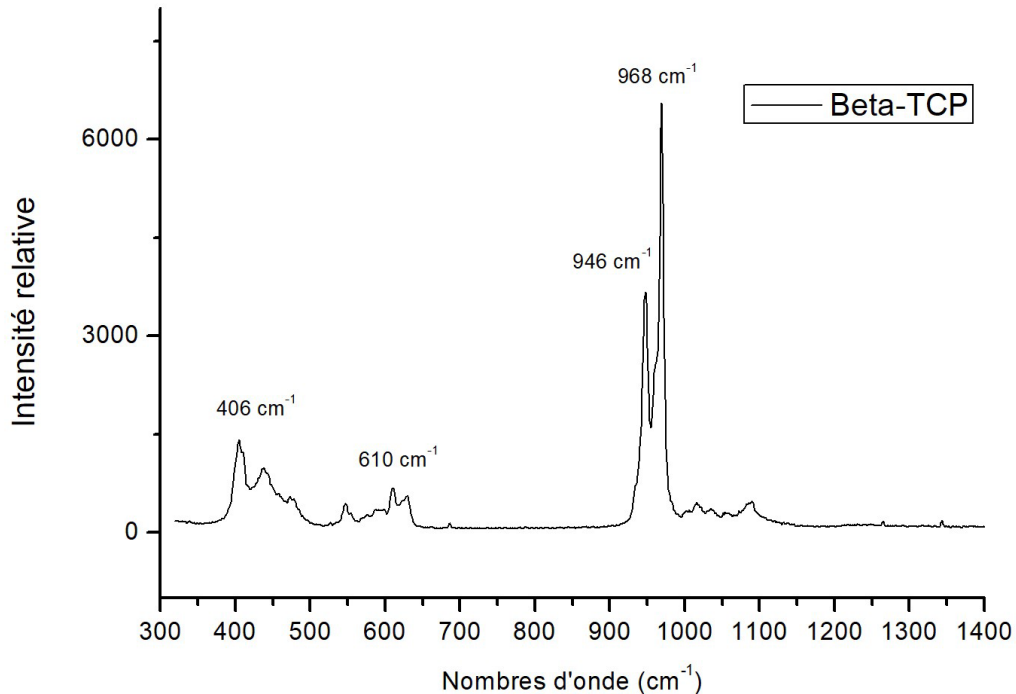


Figure 39: Spectre Raman de référence pour la phase β -TCP.

Le pic de plus forte intensité du β -TCP à 968 cm^{-1} est confondu avec celui de plus forte intensité de la phase d'HA. On peut déterminer la présence de la phase β -TCP en observant le second pic à 946 cm^{-1} .

Les premières pastilles qui nous intéressent sont HAG2 et HAG4. HAG2 présente 3 pics de la phase β -TCP en DRX. Alors qu'on pourrait s'attendre à un pic intense à 946 cm^{-1} , il n'est présent que légèrement. Il y a une séparation en deux temps avec une première montée en intensité pour le pic à 946 cm^{-1} puis une deuxième montée en intensité cette fois pour le pic à 968 cm^{-1} . Quant à HAG4, les spectres Raman confirment une phase unique d'HA avec aucune présence de pic à 946 cm^{-1} (voir les spectres sur la figure 41). A 946 cm^{-1} , seul le pied du pic de la phase HA (à 968 cm^{-1}) est présent. Une phase cristalline d'HA à 100% déduite des analyses Raman est en désaccord avec le pourcentage de phase β -TCP de 3,6 % obtenu par DRX. La zone d'analyse et une pénétration dans le matériau de $5 \mu\text{m}$ restent néanmoins beaucoup moins représentatives de la globalité d'un échantillon. Il n'est pas à exclure que HAG4 comporte bien un pourcentage de phase β -TCP.

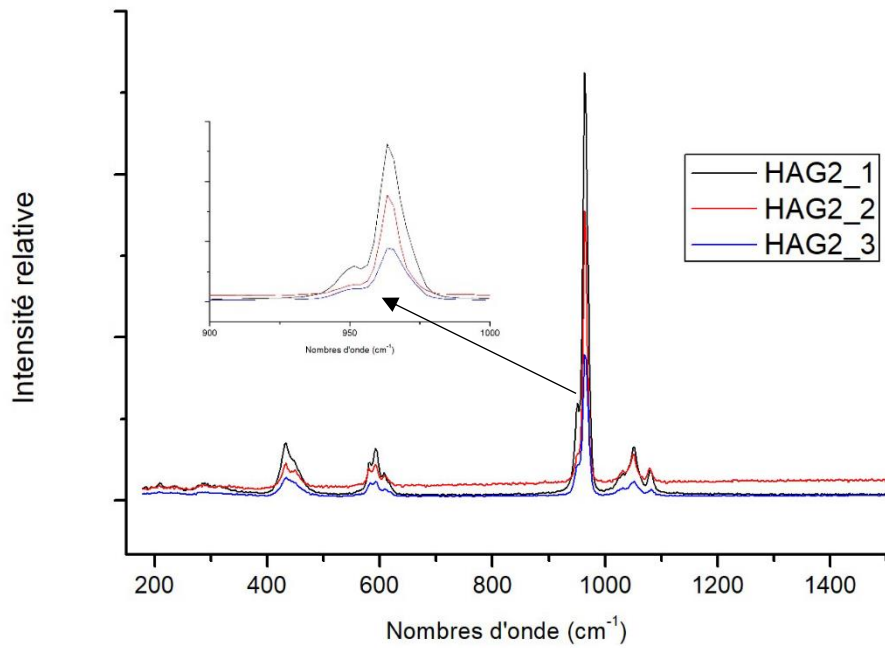


Figure 40: Spectres Raman de HAG2. Zoom dans le domaine d'apparition du pic de β -TCP.

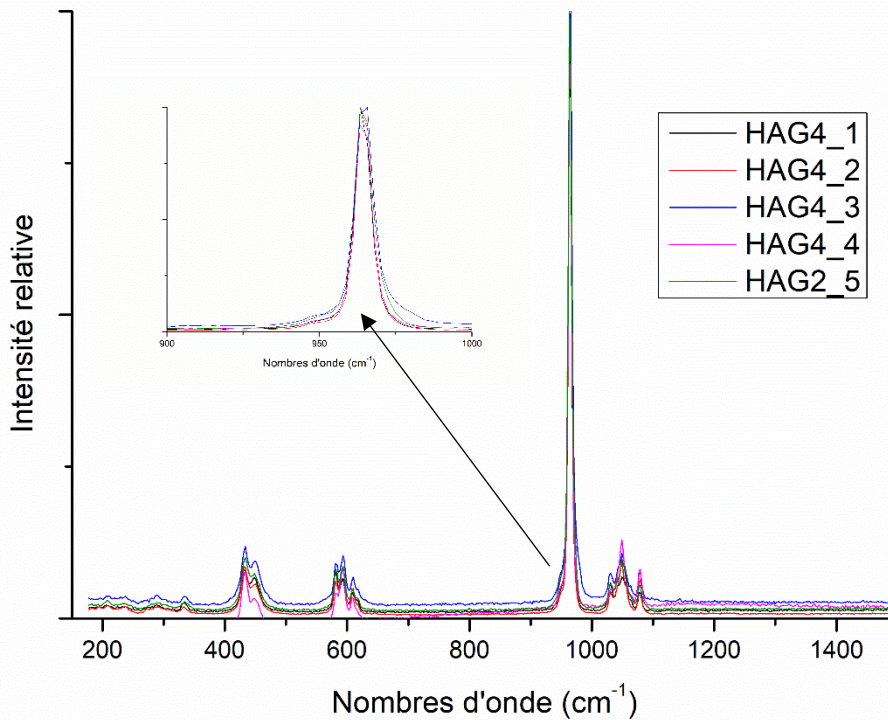


Figure 41: Spectres Raman de HAG4. Zoom dans le domaine d'apparition du pic de β -TCP.

Si l'on prend maintenant le cas de HAG13 qui possède un très léger pic de β -TCP à $2\theta=31^\circ$ en DRX. Nous avons émis l'hypothèse qu'il ne présentait pas de phase β -TCP

car ce pic pouvait être trop confondu avec le bruit de fond. Ce qui peut conduire à des mesures de valeurs et un calcul de rapport Ca/P faussés. En se penchant sur ses spectres Raman (présents sur la figure 42), HAG13 est dans le même cas que HAG4. Elle ne possède pas de pic à 946 cm^{-1} , mais s'il n'est pas à exclure qu'elle comporte bien un pourcentage de phase β -TCP.

La présence d'une seconde phase β -TCP avec l'HA serait donc très faible si ce n'est nulle dans tous les échantillons, ce qui coïnciderait avec les rapports Ca/P d'une valeur de 1,66 pour la majorité des pastilles du lot 1 calculés à partir de la DRX.

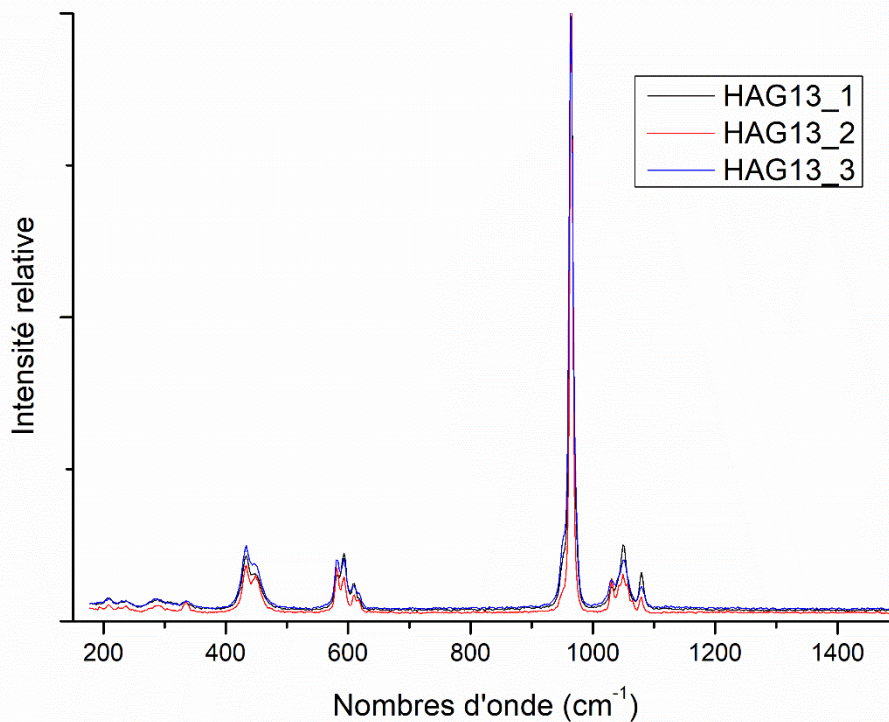


Figure 42: Spectres Raman de HAG13 sans présence de β -TCP.

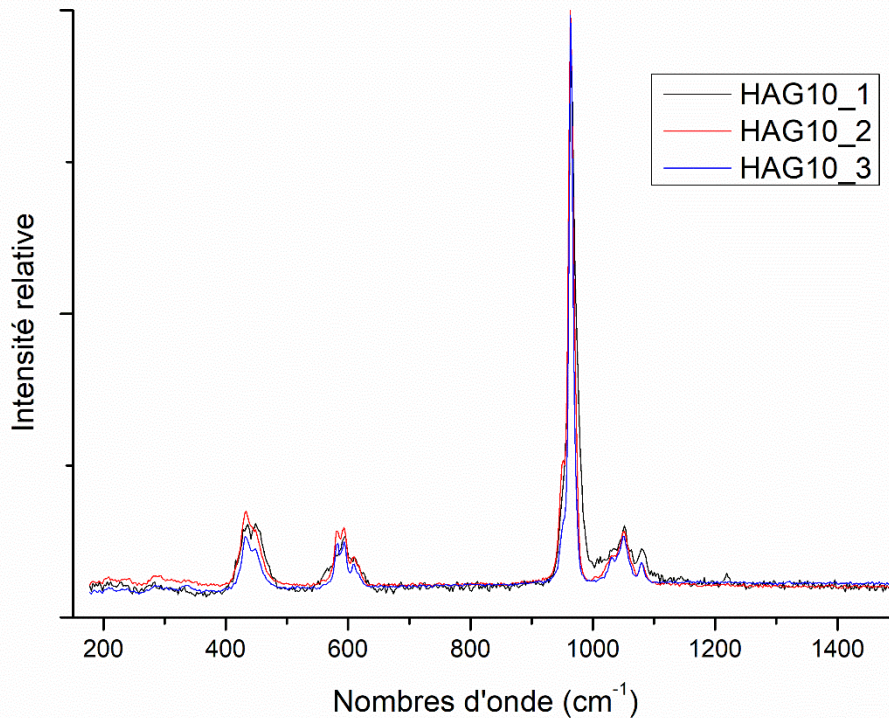


Figure 43: Spectres de HAG10 sans la présence de β -TCP.

Pour terminer, les spectres obtenus sur HAG10 sont représentés sur la figure 43. Il possède un pourcentage plus élevé de phase β -TCP que HAG13 selon la DRX. Comme lui, la présence de cette phase n'est pas visible avec l'absence d'une augmentation de l'intensité à 946 cm^{-1} .

Les analyses Raman qui sont localisées dans une très petite zone des échantillons nous ont permis de mettre en lumière la présence de la phase β -TCP dans la composition des pastilles. Elle est avérée pour certaines comme HAG2. Si cette phase est présente dans les autres échantillons comme HAG10, ce serait à un pourcentage inférieur 2% (seuil de détection de l'analyse). Cela tendrait à nous conforter dans la considération des valeurs de pourcentages obtenues en DRX. Il est cependant nécessaire de rappeler que ces valeurs sont difficilement exploitables du fait de la mesure d'un pic presque complètement confondu avec le bruit de fond.

3. Mouillabilité et phase β -TCP

Afin d'observer si les différences de pourcentage en phase β -TCP entre les pastilles impactent grandement le suivi de mesures d'angles de goutte, une étude est réalisée sur 8 pastilles séparées en deux groupes. Le premier groupe est composé de HAG1, HAG3, HAG4 et HAG13 considérés comme ne possédant pas ou très peu de phase

β -TCP. Le second groupe comporte HAG2, HAG6, HAG7 et HAG11 avec un pourcentage plus important de β -TCP. Ces groupes sont formés en fonction des résultats obtenus par la DRX. Le temps de stockage a ici été réduit à 15 min sous vide en étuve uniquement dans le but de procéder à l'évaporation du THF en surface.

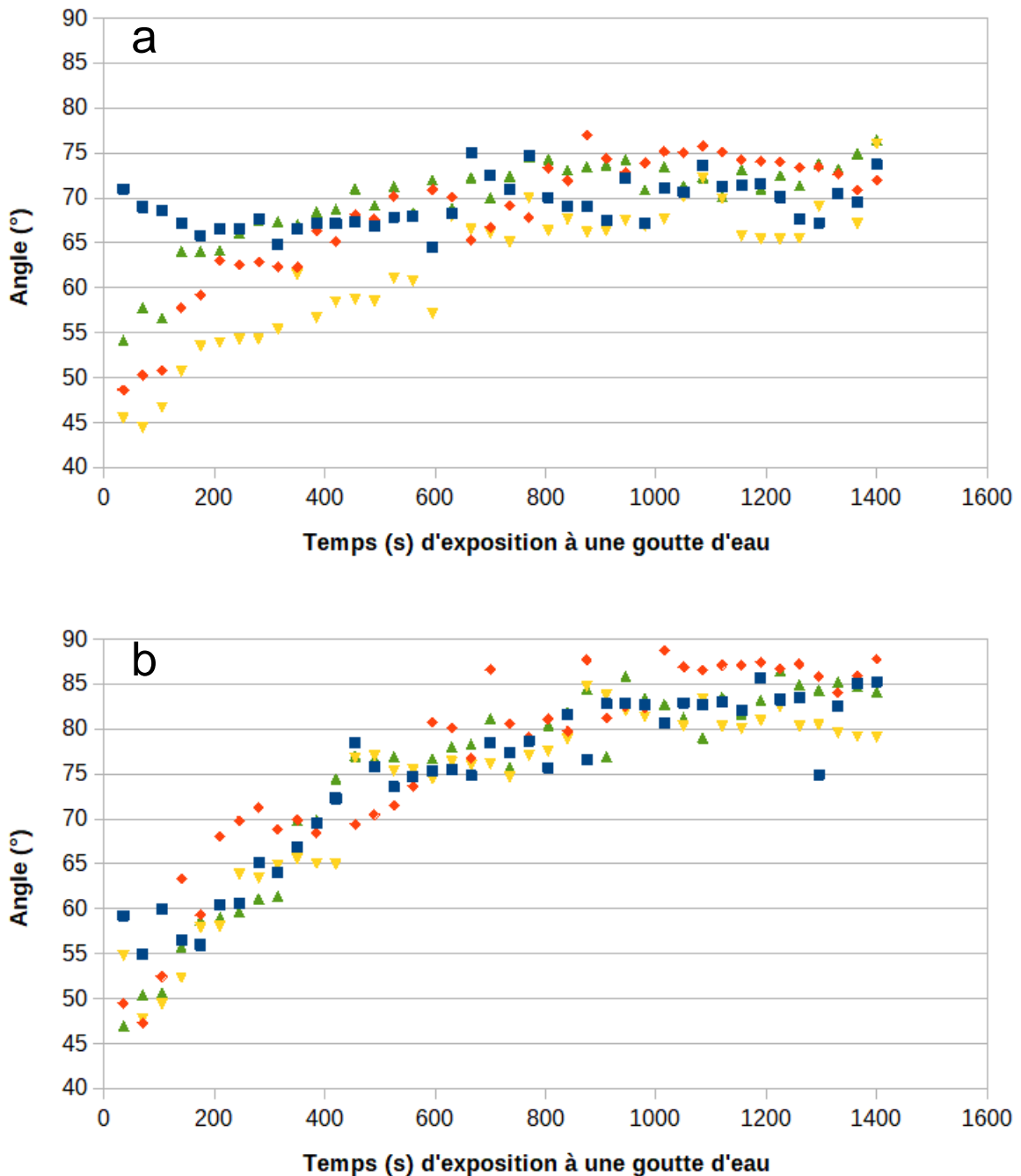


Figure 44: Evolutions des mesures d'angles de goutte en fonction du temps de pastilles non polies sans β -TCP (a) et pastilles non polies avec β -TCP (b).

La première information à noter est que mise à part HAG1 qui possède une valeur d'angle initial supérieure à 70° , un temps court en étuve conduit à des valeurs initiales

d'angles plus faibles et ce pour les deux groupes. Le phénomène aléatoire sur ces valeurs reste cependant toujours d'actualité. Une seconde différence est notable au niveau des valeurs de stabilisation après une quarantaine de mesures consécutives. Le premier groupe possède un intervalle de stabilisation semblable aux anciennes pastilles Ech et HA. Il conduit néanmoins à des valeurs légèrement supérieures entre 65° et 75° (contre 55° à 70°). Le second groupe possède un intervalle de stabilisation plus élevé encore avec des valeurs comprises entre 80° et 90°.

Une différence dans l'intervalle de stabilisation des mesures vient donc s'ajouter aux valeurs initiales aléatoires. Il est donc nécessaire de corriger ces problèmes d'homogénéité de lot de pastilles dans le prochain afin de pouvoir mener des études à partir d'une référence constante entre les échantillons.

D. Caractérisation des pastilles HAG

Les pastilles étudiées maintenant sont issues du même lot de poudre que le lot 1. À la suite des soucis que peut poser la présence d'une phase β -TCP, une attention plus particulière sur le protocole et la température de frittage a été menée pour éviter d'obtenir les mêmes problèmes que le lot de pastilles HA β -TCP. Afin d'avoir assez de pastilles pour l'ensemble de ma thèse qui va comprendre des analyses ne permettant pas leur réutilisation, une centaine de pastilles sont donc préparées en même temps.

1. Composition et structure cristalline

a) Spectroscopie Infrarouge

HAG15 a été sacrifié pour des analyses infrarouge en pastilles de KBr. Le spectre est présenté ci-dessous. Il ne pouvait être tiré des précédents spectres (lot 1) des informations cruciales par rapport à la phase β -TCP du fait que les bandes d'absorbances des groupements PO_4^{3-} soient superposées et ne permettent pas une étude précise. Le spectre infrarouge de HAG15 (figure 45) comporte, comme le lot de pastilles 1, les groupements caractéristiques de la phase d'HA. Les pics à 3750 et 456 cm^{-1} des groupements -OH et les différentes bandes de vibrations des groupements PO_4^{3-} .

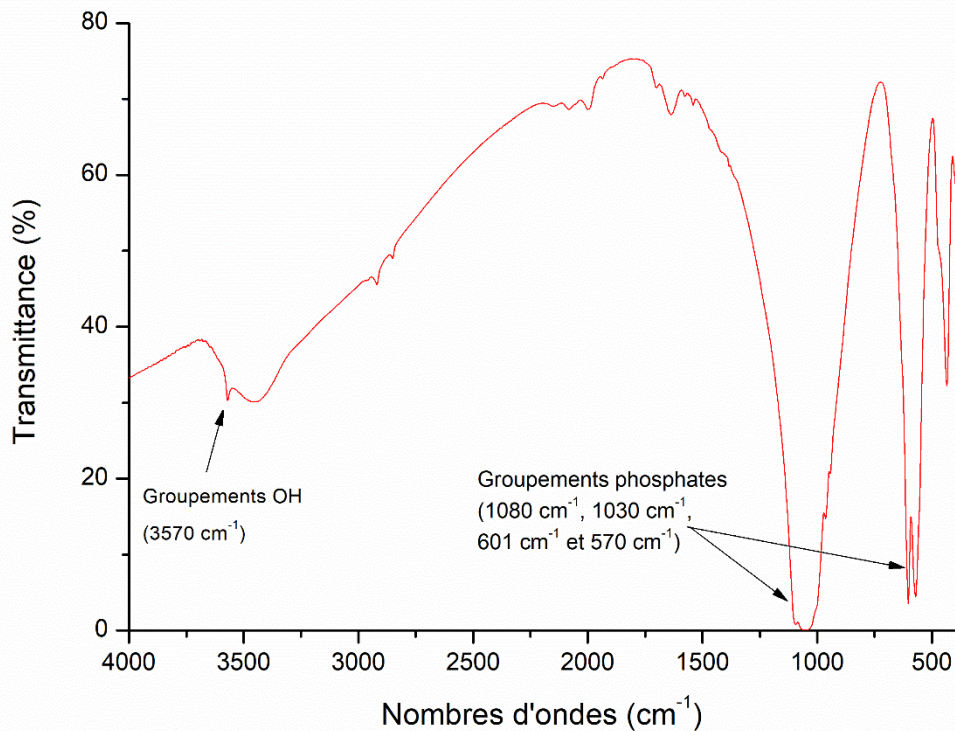


Figure 45: Spectre Infrarouge en transmittance de HAG15.

Si l'on recroise maintenant un spectre de chaque pastille (voir la figure 46), en écartant de cette comparaison les pastilles sans bande des groupements -OH. Il n'est pas observé de différences majeures entre les spectres. Les groupements OH et phosphates de l'HA sont bien présents pour chaque lot de pastilles. Les larges pics caractéristiques des groupements phosphates (PO_4^{3-}) ne permettent pas une identification précise. Un pic caractéristique des liaisons OH est présent à 631 cm^{-1} , impossible à observer distinctement dans notre cas car il est majoritairement confondu avec les pics à 570 cm^{-1} et 601 cm^{-1} des PO_4^{3-} . Les différents groupements caractéristiques d'une phase d'HA sont donc bien présents. Les larges pics à 3400 cm^{-1} indiquent la présence d'eau dans les échantillons. Sur cette figure 46, ils possèdent une intensité beaucoup moins importante du fait de la préparation des pastilles de KBr en séchant la poudre d'HA en étuve. Néanmoins, il ne nous a pas été possible d'éliminer toute l'eau en présence pour les faire disparaître.

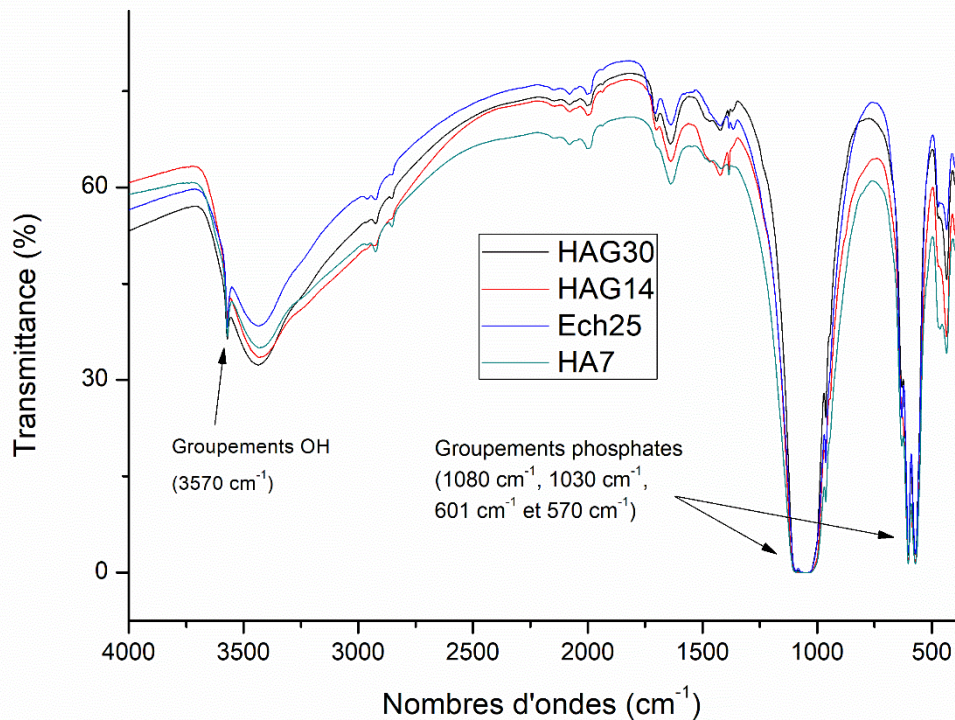


Figure 46: Comparaison des spectres Infrarouge de chaque pastille étudiée.

b) Diffraction des rayons X

Chaque pastille utilisée pour les expériences futures a fait l'objet d'une analyse DRX. L'idée principale est d'identifier si durant le frittage des pastilles, la non-synthèse de la phase β -TCP a été contrôlée. On s'intéresse donc une nouvelle fois à la présence ou non du pic de plus grande intensité de cette phase à $2\theta = 31^\circ$.

La majorité des diffractogrammes comporte, comme le lot 1, une intensité de ce pic beaucoup trop faible avec une forte influence du bruit de fond des diffractogrammes pour permettre une lecture fiable. Les quelques pastilles qui permettent une lecture la moins hasardeuse possible sont répertoriées dans le tableau 19 avec le calcul du rapport Ca/P et leur pourcentage en phase β -TCP (comme pour les calculs du tableau 17).

Pastilles	HAG31	HAG51	HAG52	HAG53	HAG54	HAG56
Ca/P	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66
% β -TCP	2,3	1,8	2,1	2,0	2,1	2,0

Tableau 19: Calcul des rapports Ca/P et du pourcentage de la phase β -TCP après polissage des surfaces. Pastilles du lot 2 qui comportent un pic de plus grande intensité de β -TCP permettant une lecture (Raynaud et al., 2001).

Un point important est le fait que le calcul du pourcentage de phase β -TCP d'aucune pastille ne conduit à des résultats élevés comme on a pu le voir sur le lot 1 avec HAG5 et ses 13 % après polissage. Toutes les valeurs qu'il est possible de calculer rendent compte de valeurs faibles de l'ordre de 2%. Les diffractogrammes de HAG49 et de HAG56 qui suivent (figure 47) illustrent la différence entre une intensité de pic non calculée et une intensité de pic calculée respectivement. Cette petite aspérité du bruit de fond à $2\theta = 31^\circ$ sur le diffractogramme de HAG56 est également observable sur le diffractogramme réalisé sur la poudre avant frittage (figure 48).

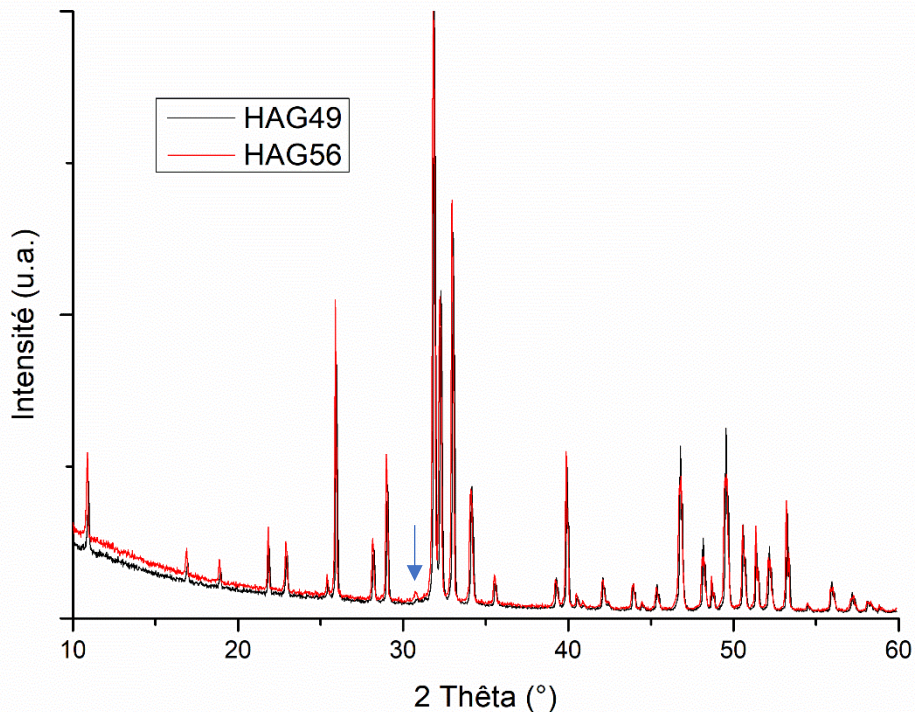


Figure 47: Diffractogrammes de HAG49 et HAG56. HAG56 qui présente un des pics à 31° les mieux mesurables.

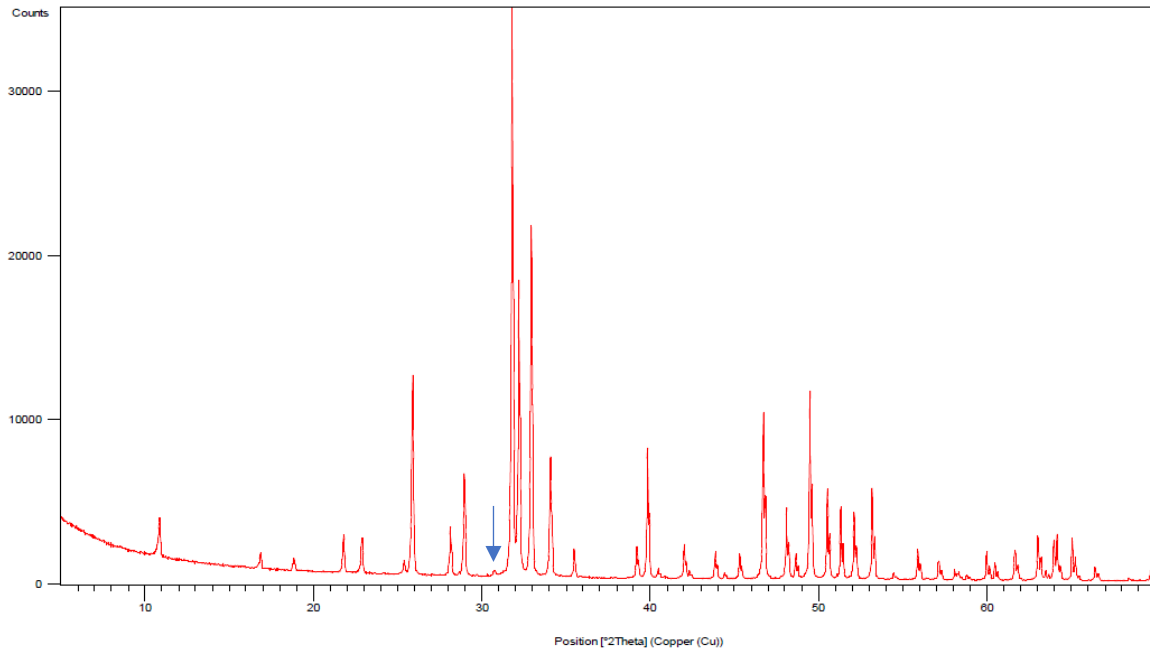


Figure 48: Diffractogramme de la poudre d'HA avant mise en barbotine pour frittage.

La diminution des épaisseurs des pastilles ne permet pas d'observer des différences significatives sur les diffractogrammes. Ceux-ci se superposent parfaitement, indiquant la même phase cristalline en présence. Les pastilles répertoriées dans le tableau 19 comporteraient un pourcentage de phase β -TCP compris entre 0 et 2 %. Toutes les autres pour lesquelles la lecture d'une intensité de pic n'est pas possible seraient donc de l'HA pur.

La formation de la phase β -TCP semble donc mieux contrôlée sur le lot 2 malgré quelques échantillons qui possèdent une très faible quantité de celle-ci.

c) Spectroscopie Raman

Une nouvelle caractérisation des surfaces par spectroscopie Raman est conduite toujours dans le but d'observer ou non la présence de la phase β -TCP. Il est obtenu, comme pour le lot 1, des pastilles avec et sans pics caractéristiques de la phase β -TCP. Sur la figure 49 et la figure 50 sont présentés les spectres de deux pastilles différentes. Ces deux échantillons comportent les pics démontrant la présence de phase β -TCP. La seconde (figure 50) a été identifiée par DRX comme une pastille possédant potentiellement de la phase β -TCP alors que la première (figure 49) non. Cela nous conforte au sujet d'un possible pourcentage faible dans chaque échantillon.

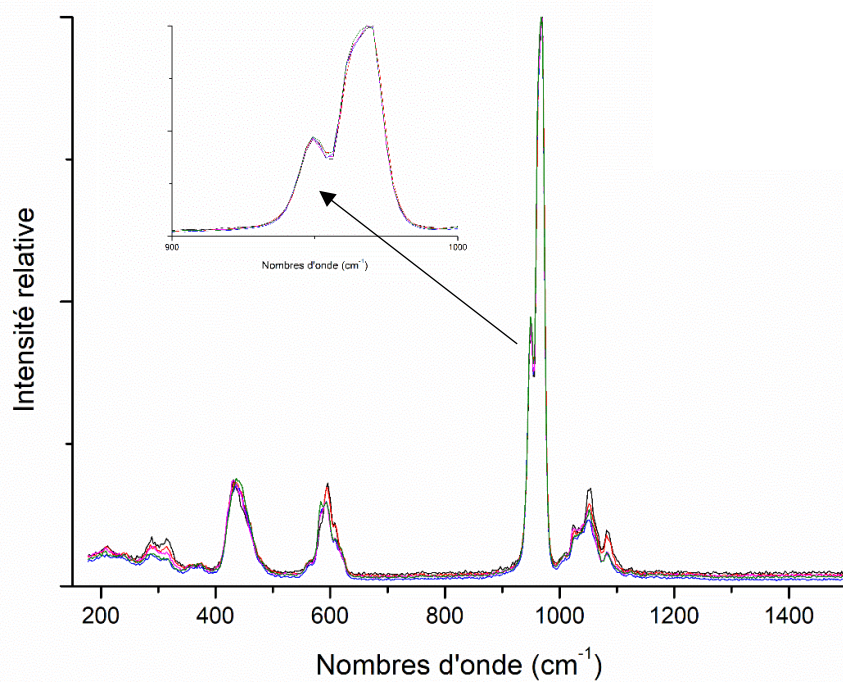


Figure 49: Spectres Raman d'une pastille ne possédant pas de phase β -TCP en DRX. Zoom dans le domaine d'apparition du pic β -TCP.

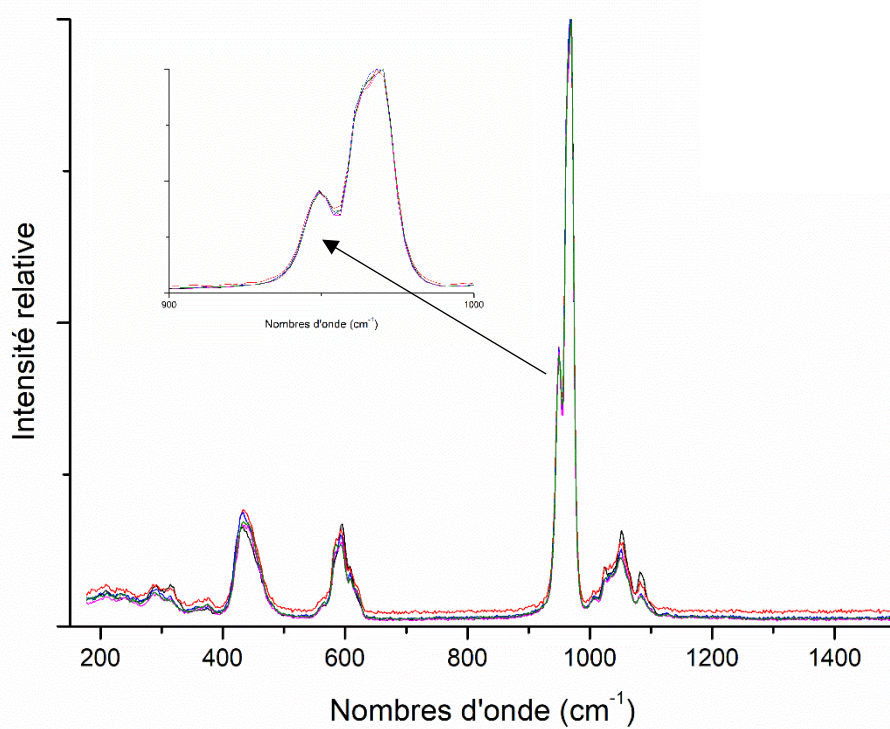


Figure 50: Spectres Raman d'une pastille possédant de phase β -TCP en DRX. Zoom dans le domaine d'apparition du pic β -TCP.

Il est possible que du β -TCP soit présent en surface des échantillons et qu'un polissage soit nécessaire pour le faire disparaître. Il est également possible que le β -TCP soit présent sur la plus grande face des pastilles qui est en contact avec le moule (figure 62) demandant de favoriser la plus petite face des pastilles pour les expériences.

Les pastilles qui ne présentent pas de pics de la phase β -TCP n'en présentent pas également sur leur grande face. HAG77, dont les spectres sont présents sur la figure 51, n'a pas été polie afin d'être analysée « brute ». Une phase d'HA pure est observée sur les deux faces de la pastille. Quant à l'élimination du β -TCP après polissage, il n'en est rien. HAG62 illustre cet état de fait après avoir perdu un quart de son épaisseur (figure 52). Quand la phase β -TCP est détectable en surface des pastilles, elle l'est également en profondeur du matériau.

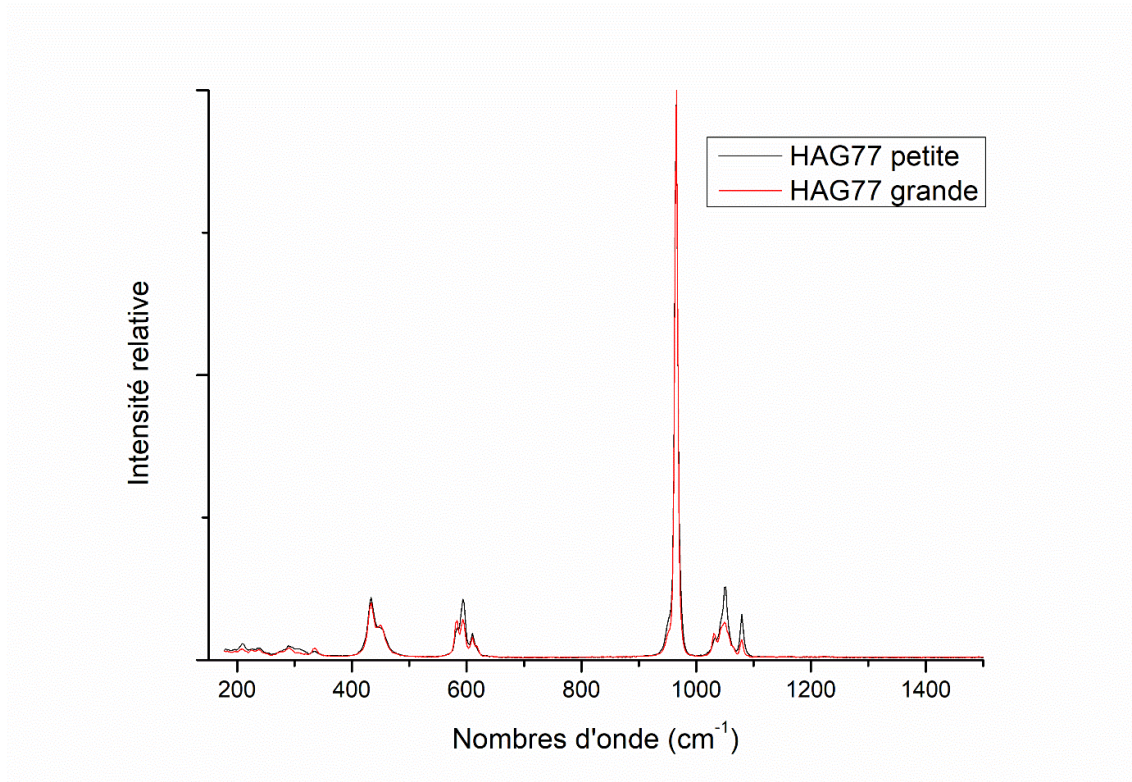


Figure 51: Spectres Raman de HAG77. Le spectre noir est le résultat d'une analyse sur la plus petite face et le spectre rouge sur la grande.

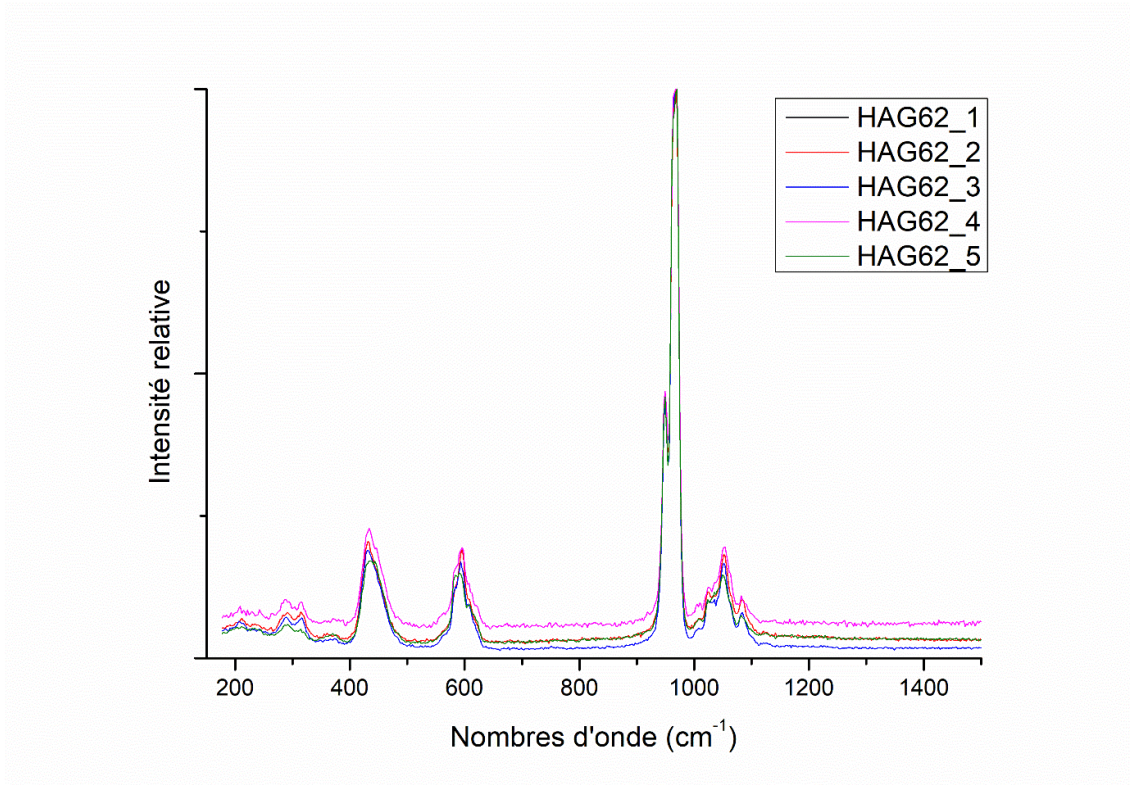


Figure 52: Spectres Raman de HAG62 qui a vu son épaisseur diminuer d'un quart pour une analyse en profondeur du matériau.

2. Mouillabilité et état de surface

a) Importance du contrôle de l'état de surface

Après avoir mis en lumière la non-homogénéité du lot de pastilles HAG1 à HAG10 et une amélioration pour le lot HAG15 à HAG56 qui comportent très peu de pastilles avec une faible présence de β -TCP, une nouvelle étude de répétabilité des mesures d'angles de goutte est menée sur les pastilles 16 à 22.

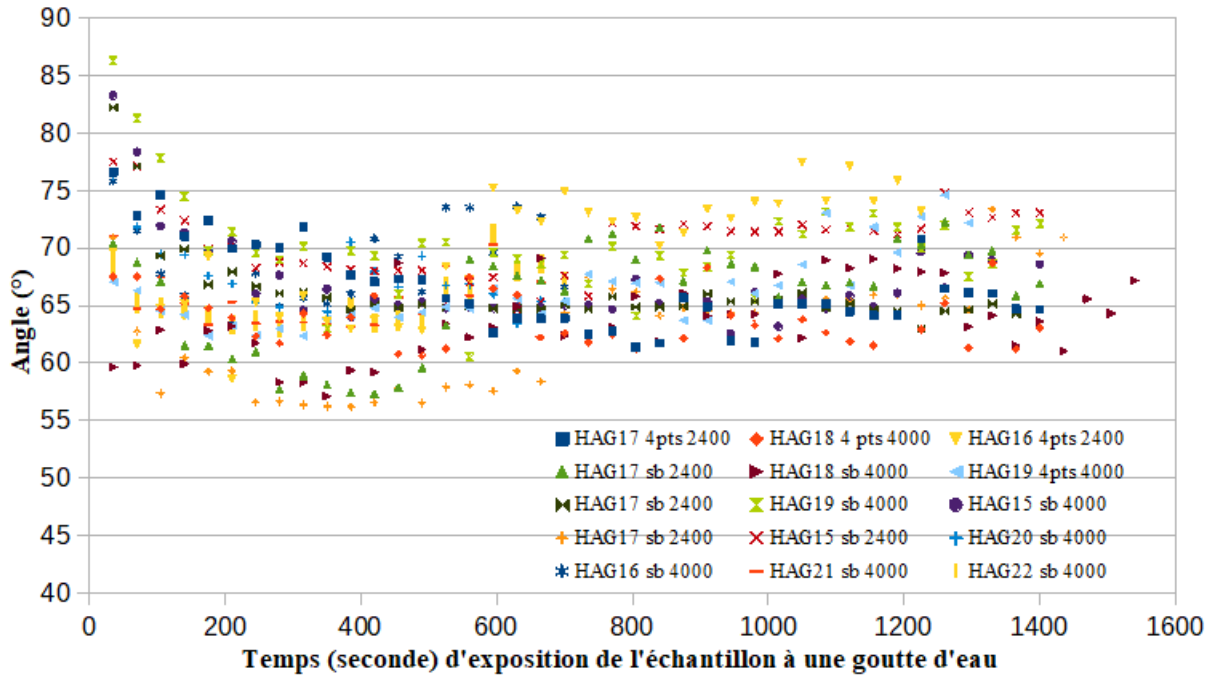


Figure 53: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur les pastilles HAG16 à HAG22 issues du lot 2 pour des polissages « sans bouger » et « 4 points ».

L'allure des courbes de répétabilité des pastilles HAG est semblable à celles des anciennes pastilles. Il est à nouveau observé une grande disparité des valeurs initiales d'angles de goutte ainsi qu'une tendance à la stabilisation des valeurs dans un intervalle entre [60°-75°]. Cet intervalle étant néanmoins supérieur de 5° par rapport à ce qui a été observé précédemment. Une autre information importante peut être tirée de cette figure 53 en se focalisant sur les résultats de HAG17 présentés ci-dessous.

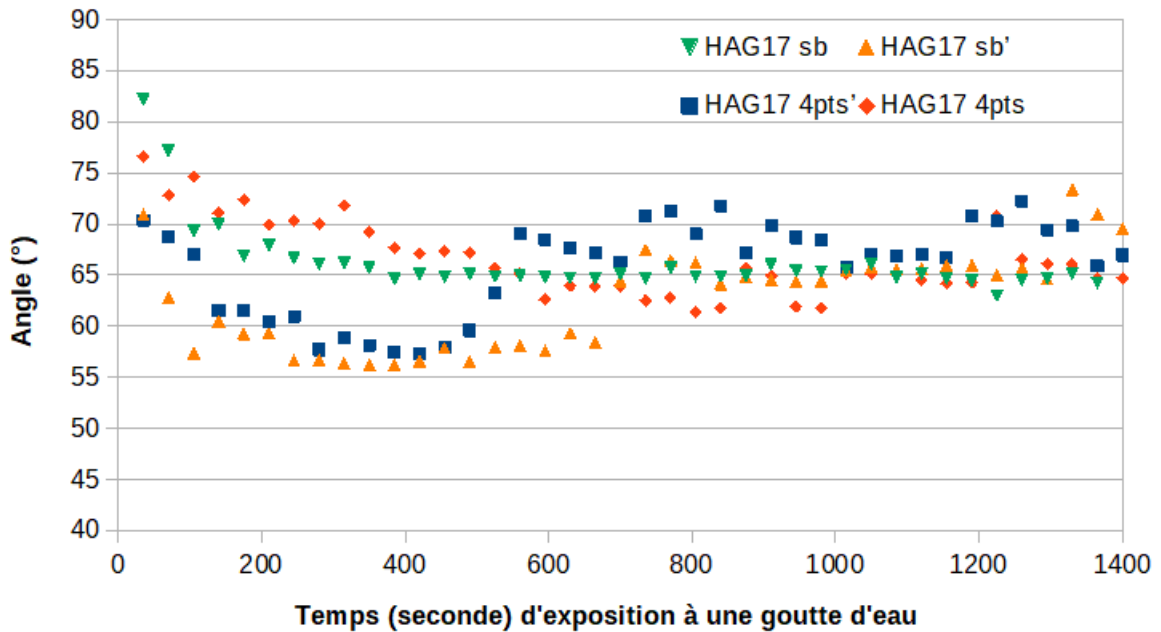


Figure 54: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur HAG17 à 4 dates différentes pour deux polissages "sb" et deux polissages "4pts".

Les séries de mesures bleu et orange ainsi que verte et rouge ont été réalisées durant la même période. En les étudiant par paire avec un polissage « sb » et un polissage « 4pts », une évolution similaire est observée. La manière de polir ne semble pas influencer directement les mesures, comme nous l'indique également la figure 55 entre HAG16 « 4pts » et HAG19 « 4pts » ainsi que HAG17 « sb » et HAG18 « sb ». Ces résultats coïncident avec ceux obtenus pour le lot de pastilles 1 et nous conforte dans le fait que l'étude entre les différentes méthodes de polissage n'a pas vraiment lieu d'être. Il sera adopté un polissage « sb » pour ne pas compliquer la tâche du polissage et permettre un gain de temps dans la préparation des échantillons.

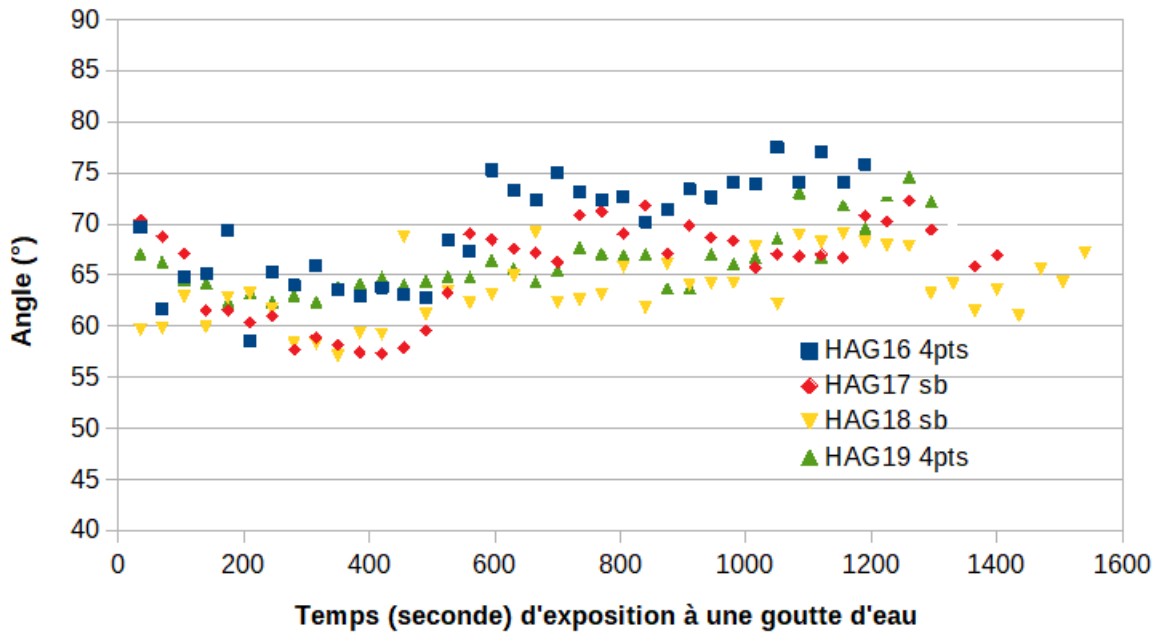


Figure 55: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur HAG16, HAG17, HAG18 et HAG19 pour des polissages 4pts, sb, sb et 4pts respectivement.

Des analyses de microscopie optique ont été faites pour observer des différences entre les surfaces d'échantillons polies et nettoyées et les surfaces non polies et non nettoyées. La surface de HAG35 non polie et non nettoyée est visible sur la figure 56.

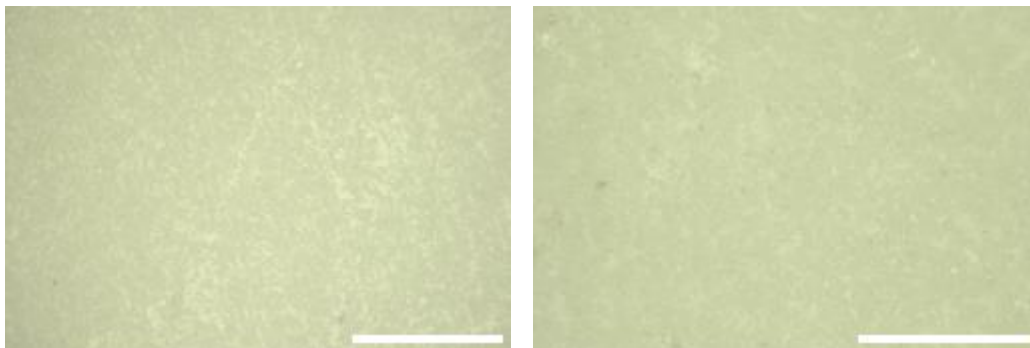


Figure 56: Images par microscopie optique de HAG35 non polie et non nettoyé (échelle de 200 µm à gauche et de 50 µm à droite).

Si l'on compare son état de surface par rapport aux pastilles HAG30 et HAG31 qui ont été polies puis nettoyées, des différences sont observables.

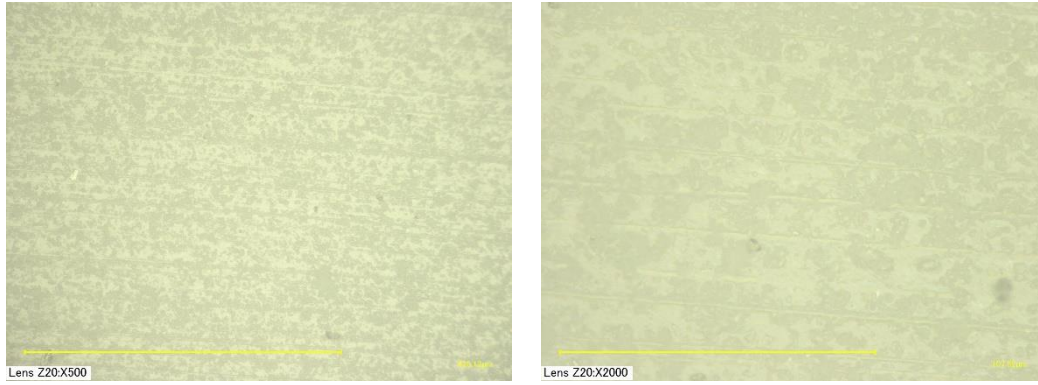


Figure 57: Images par microscopie optique de HAG polie, nettoyée. Grossissement x500 (à gauche) et x2 000 (à droite).

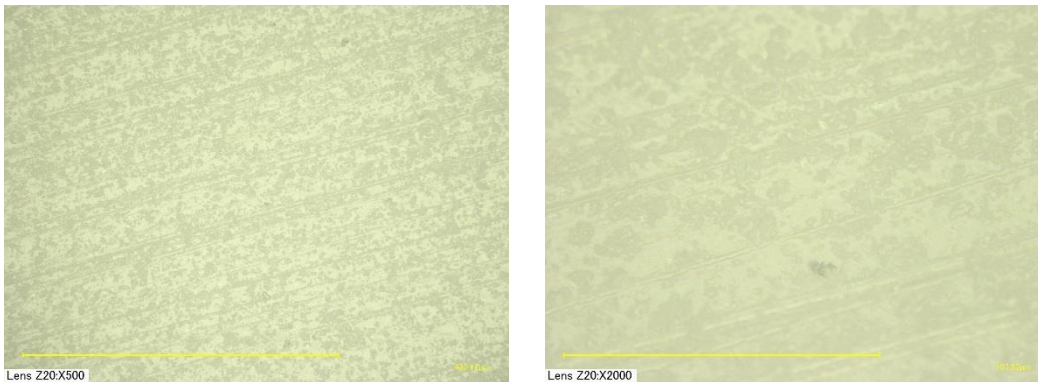


Figure 58: Images par microscopie optique de HAG polie, nettoyée. Grossissement x500 (à gauche) et x2 000 (à droite).

On remarque clairement les raies de polissage sur les images de HAG30 et HAG31 (figure 57 et figure 58). Le polissage a permis un éclaircissement de la surface, synonyme d'une homogénéisation du plan des pastilles. Les images de HAG35 sont plus sombres avec une surface très irrégulière due au frittage qui a laissé des aspérités en surface.

Si l'on observe plus précisément ces surfaces au MEB, on peut remarquer que les surfaces préparées ne sont pas si « nettes » que prévu. Le polissage n'a pas égalisé les niveaux de couches. Sur les images de la figure 59, il est observé plusieurs niveaux de surface. Des cavités plus ou moins grandes sont visibles, séparées par de larges zones non impactées par le polissage.

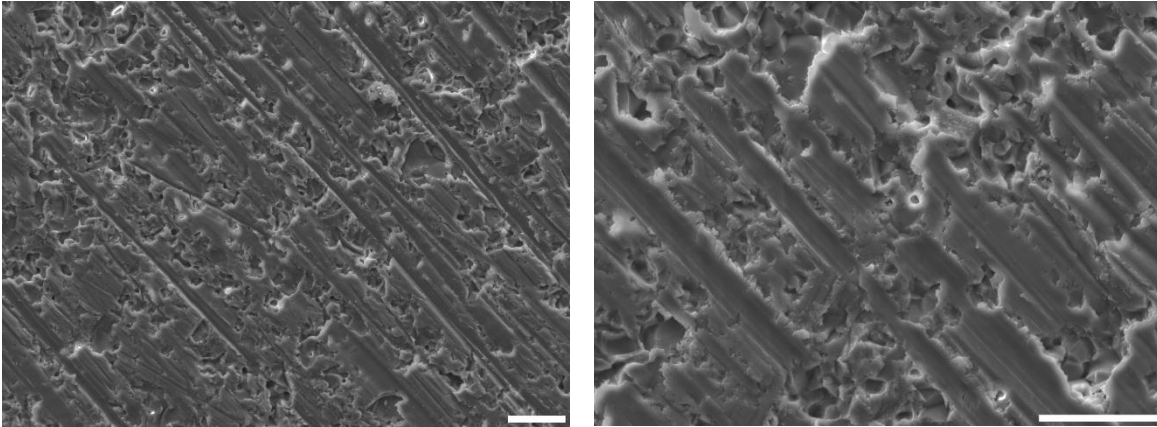


Figure 59: Images MEB en électrons rétrodiffusés de HAG polie et nettoyée à des grossissements différents (échelle de 10 μm).

Un temps de polissage plus important pourrait pallier ce problème et l'obtention d'une surface plus nette.

b) Standard de l'état de surface pour les pastilles HAG

Dans le but précis d'obtenir des surfaces plus nettes sans les phénomènes de multi couches de HAG31 et de permettre la correction de la malformation des surfaces (Chapitre II:B.1, p38), un polissage progressif avec des disques à différentes tailles de grains est adopté. Comme on peut le voir sur la figure 60, les surfaces ne présentent plus un aspect à plusieurs couches comme pour HAG31. Les surfaces sont plus nettes avec toujours la présence de crevasses dues à l'arrachage de la surface pendant le polissage.

L'épaisseur de plusieurs pastilles a été réduite de moitié afin d'étudier les possibles différences entre la surface et le cœur des matériaux. Les images de HAG41 sur la figure 61 montrent cette diminution d'épaisseur.

L'état de surface au cœur du matériau est identique à celui de son état de surface avec toujours la présence de cavités induites par l'arrachement de la surface après le polissage. Il n'est pas observé de crevasses ouvertes, c'est-à-dire des crevasses dont on ne peut pas observer la profondeur, synonyme de porosité dans le matériau.

Il est remarqué ici qu'il a été judicieux de réaliser un polissage progressif des surfaces à l'aide de différentes tailles de grains pour permettre de minimiser les aspérités finales sur les surfaces polies. Cette méthode de polissage est donc adoptée pour toutes les

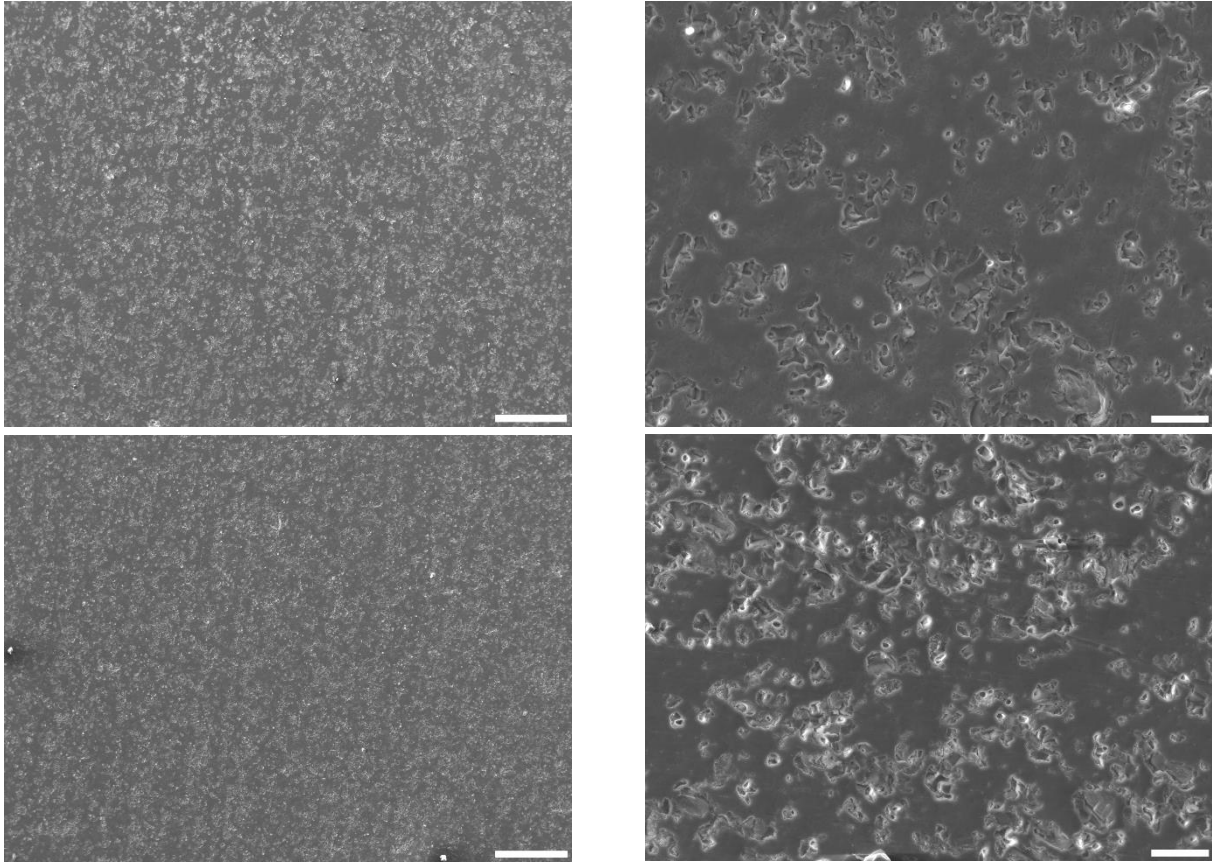


Figure 60: Images MEB de HAG (échelle de 100 µm à gauche et de 10 µm à droite) pour un polissage plus long.

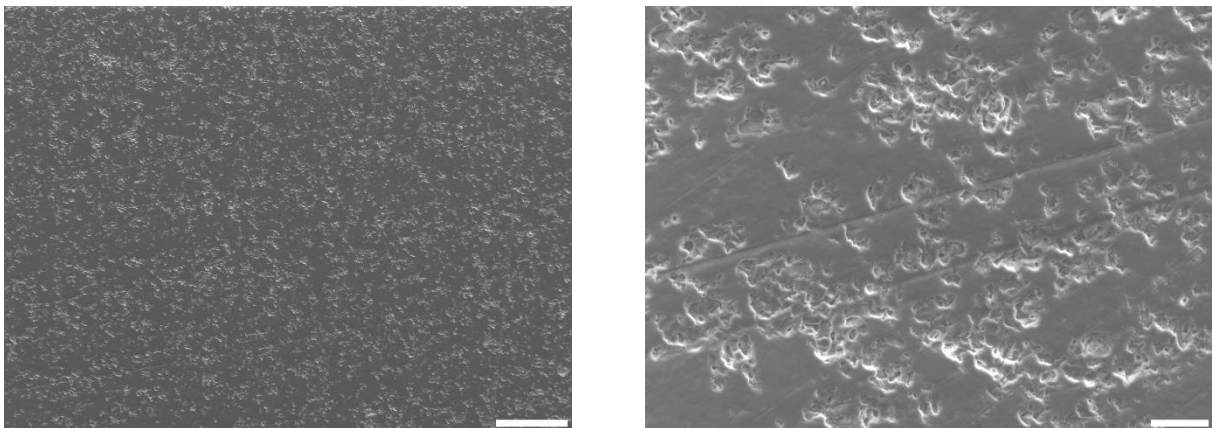


Figure 61: Images MEB de HAG dont l'épaisseur a été diminuée de moitié (échelle de 100 µm à gauche et de 10 µm à droite).

préparations de surface. La nécessité d'un temps de polissage plus long et progressif vient du fait de devoir corriger une malformation des surfaces pendant leur mise en forme. Le schéma suivant présente l'aspect des pastilles avec la plus petite face qui comporte une cavité.

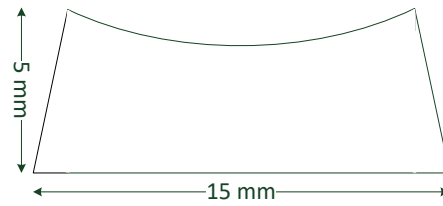


Figure 62: Représentation schématique de la forme d'une pastille. La profondeur de la cavité supérieure est volontairement exagérée.

Pendant l'étape d'élimination de l'eau par capillarité dans des moules en plâtre, les forces en présence induisent un possible phénomène d'accumulation et de déformation. Les précédents additifs de la barbotine pourraient être localisés aux arrêtes de contact du moule et de la barbotine. La face du bas (en contact avec le fond du moule en plâtre) est donc susceptible de présenter ces additifs en surface, ce qui fausserait les mesures. Il est donc recommandé de ne pas réaliser des mesures sur cette face. Les forces de capillarité conduisent également à une déformation de la pastille, qui ne garde pas un diamètre identique en fonction de son épaisseur. Il en résulte également une face supérieure possédant une cavité. Un polissage par étape en diminuant progressivement la taille des grains est donc de rigueur pour pouvoir utiliser correctement cette face (chap Chapitre II:B.1 p38).

Les profils de rugosité obtenus sur ces échantillons (figure 63) étayent les précédents résultats de rugosité obtenu sur les anciennes pastilles.

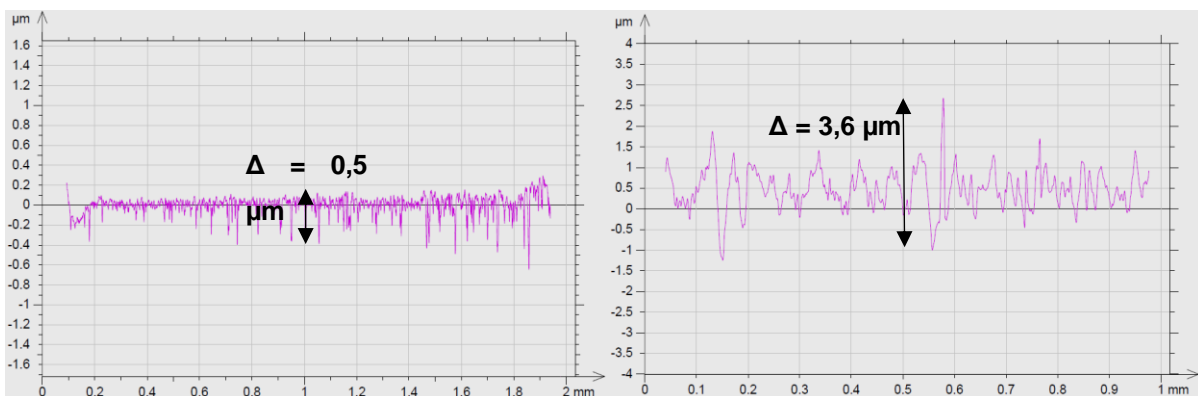


Figure 63: Profils de rugosité d'une pastille polie à 4 µm (gauche) et polie grossièrement à 200 µm (droite).

Polissage 4 µm	Moyenne de Ra (µm)	Moyenne de Rq (µm)	Polissage 200 µm	Moyenne de Ra (µm)	Moyenne de Rq (µm)
HAG58	0,11	0,15	HAG61	0,46	0,53
HAG65	0,15	0,22	HAG62	0,47	0,57

Tableau 20: Valeurs de rugosité à des localisations différentes pour des tailles de grains de polissage de 4 et 200 µm.

La différence de valeurs entre les deux tailles de grains de polissage est toujours notable que ce soit sur les profils de rugosité ou en comparant les valeurs rugosité moyenne arithmétique et quadratique. L'amplitude maximale Δ des surfaces polies à 200 μm est à nouveau nettement supérieure à celle de 4 μm . Les valeurs de R_a sont toujours aux alentours de 0,10 μm pour le polissage à 4 μm . Cette remarque est également valable pour le polissage grossier avec des valeurs entre 0,4 et 0,5 μm (Tableau 20).

Une différence de valeur est notable entre les deux, avec toujours des valeurs de R_a et R_q aux alentours de 0,10 μm pour un polissage à 4 μm . Comme il était attendu en faisant un polissage avec des tailles de grains plus importantes, les valeurs de R_a et R_q ont augmenté pour être comprises entre 0,4 et 0,6 μm . La différence de morphologie de surface est également très visible en comparant un profil de rugosité de chaque cas (figure 63).

c) Analyse de l'HA vierge ou humide

(1) Caractérisation par Tof-SIMS et XPS

Des analyses Tof-SIMS sont conduites pour mettre en évidence l'impact du polissage et du nettoyage sur les surfaces étudiées. Cinq pastilles ont fait l'objet d'une étude. HAG34 n'a subi aucune préparation et HAG35 a seulement été polie. HAG36 et HAG37 ont quant à elles été polies puis nettoyées au bain à ultrason dans une solution de THF et de l'eau ultrapure respectivement.

Les spectres en ions positifs et négatifs des différentes surfaces sont présentés ci-dessous. Les pics caractéristiques présents dans les spectres positifs sont ceux des ions Ca^+ et CaOH^+ (à 40 et 57 uma respectivement). Des impuretés sont également visibles comme les ions Na^+ et K^+ (à 23 et 39 uma respectivement) ainsi que des hydrocarbures dont un pic à 73 uma indique la contribution de silicium. Au-delà de 95 uma, tous les pics correspondent à des ions composés de l'association d'atomes de calcium et d'oxygène ou de calcium, de phosphore et d'oxygène qui ne comportent pas assez de nombres de coups pour être significatifs. En se référant à la figure 64, il est observé que le polissage permet l'élimination de la pollution de silicium par la forte diminution du nombre de coups du pic d'hydrocarbure de silicium après polissage (b). Cela ne permet cependant pas l'élimination du sodium et du potassium en surface. Il est néanmoins obtenu une plus forte population de calcium et de groupements

hydroxyles en surface après polissage comme l'indique l'augmentation du pic d'ions CaOH^+ après polissage.

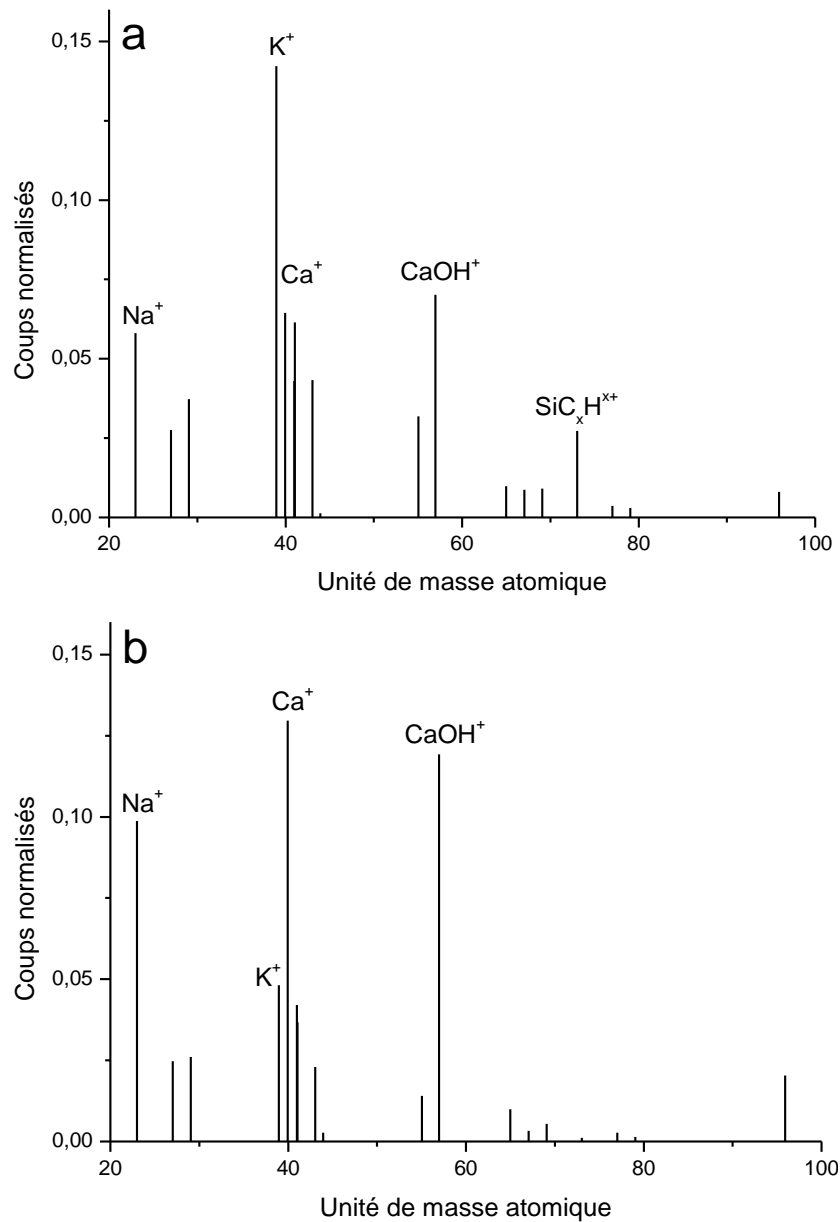


Figure 64: Spectres ToF-SIMS positifs de HAG34 non polie non nettoyée (a) et de HAG35 polie non nettoyée (b).

Cette constatation est également vérifiée pour les pics caractéristiques de HA sur les spectres négatifs qui sont O^- , OH^- , PO_2^- et PO_3^- à respectivement 15, 17, 63 et 79 uma. Leurs intensités augmentent après polissage (voir figure 65). Les impuretés en hydrocarbures à 25 uma ne semblent pas être impactées par cette préparation de surface.

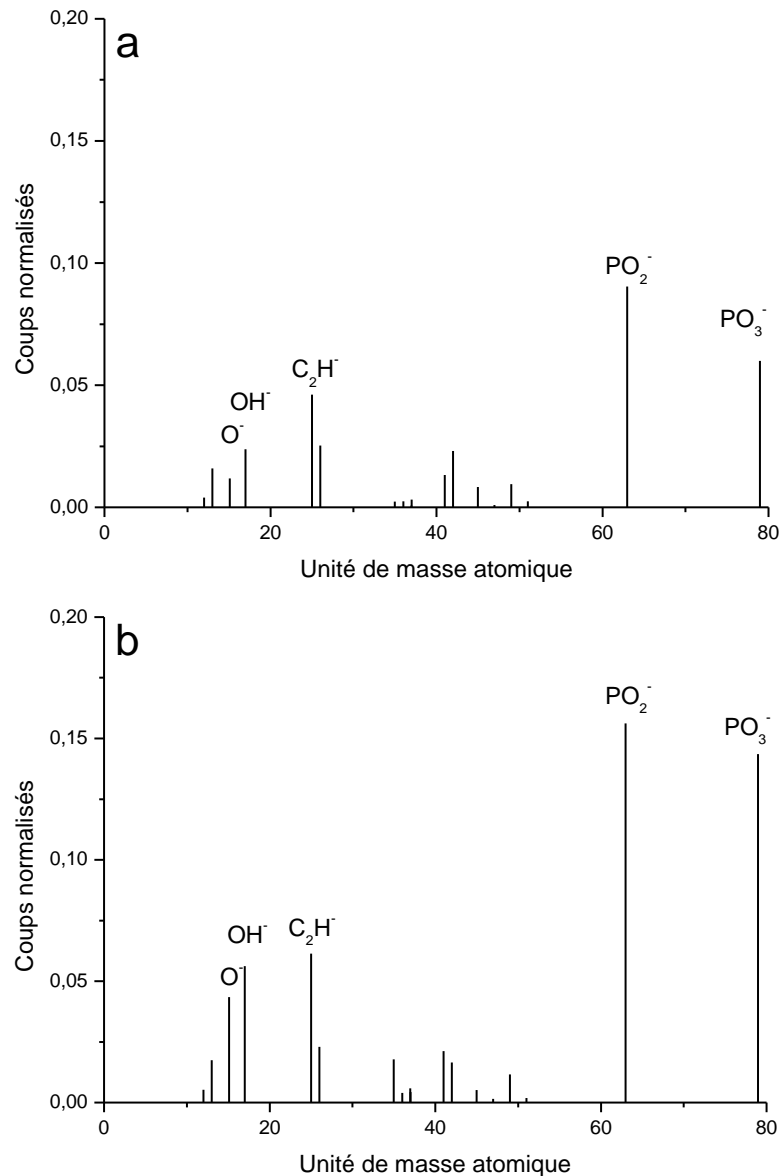


Figure 65: Spectres ToF-SIMS négatifs de HAG34 non polie non nettoyée (a) et de HAG35 polie non nettoyée (b).

Il est maintenant intéressant de comparer les spectres ToF-SIMS après les nettoyages de surface. Si l'on commence par les spectres positifs (figure 66), les deux nettoyages de surface conduisent à l'élimination du pic d'hydrocarbure de silicium à 73 uma. Ces deux solvants contribuent également à la diminution de la pollution de surface par le potassium mais seul l'eau ultrapure permet la diminution de la pollution par le sodium. Les pics caractéristiques de l'HA (Ca^+ et $CaOH^+$) voient donc leur nombre de coups augmenter en conséquence, indiquant que la surface présente plus d'éléments chimiques liés au matériau lui-même.

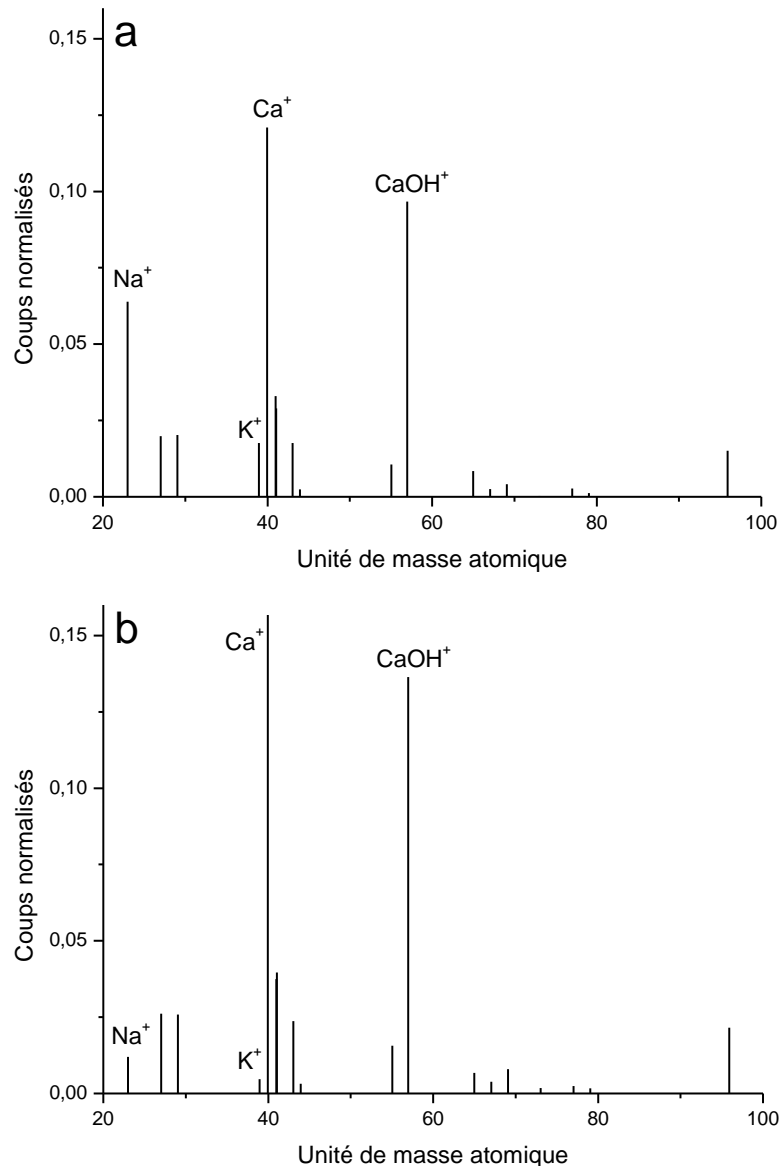


Figure 66: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG36 polie nettoyée au THF (a) et de HAG37 polie nettoyée à l'eau ultra pure (b).

En ce qui concerne les spectres négatifs (figure 67), aucun des deux nettoyages ne conduit à une diminution du pic de pollution d'hydrocarbure. Toutefois, les pics caractéristiques de l'HA voient à nouveau leur intensité augmenter (O^- , OH^- , PO_2^- et PO_3^-). A noter que les pics PO_2^- et PO_3^- sont sous-estimés, le spectromètre de masse n'a pas pu dénombrer correctement ces ions à cause de son temps mort entre deux mesures qui lui a fait manquer des éléments dans son total. Les spectres négatifs corroborent donc les résultats des spectres positifs quant à une plus grande présence d'éléments liés au matériau en surface après nettoyage. Ceci nous indique un effet bénéfique de ces nettoyages pour la surface.

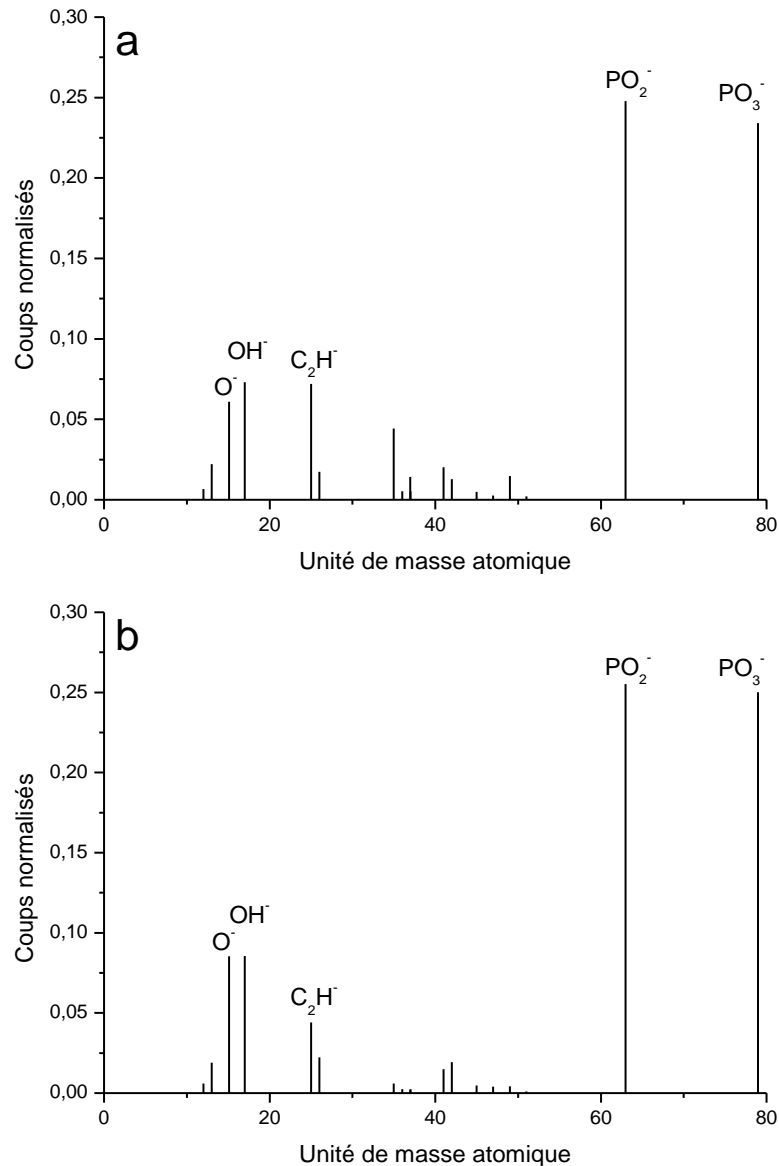


Figure 67: Spectres ToF-SIMS négatifs de HAG36 polie nettoyée au THF (a) et de HAG37 polie nettoyée à l'eau ultra pure (b).

Aux vues des résultats de répétabilité avec le goniomètre, c'est le THF qui continuera à être utilisé pour le nettoyage des surfaces à l'aide d'un bain à ultrason. Il a été observé que l'eau ultrapure permet d'éliminer les impuretés du sodium contrairement au THF. A part ce point, l'efficacité des deux solvants reste très proche.

Ces résultats ToF-SIMS ne peuvent pas être utilisés pour étayer la présence ou non de phase β -TCP. Les principaux pics sortants des spectres positifs comme négatifs sont en commun avec les deux phases (França et al., 2014).

A partir de ce mode de nettoyage et de stockage, une analyse des surfaces vierges est conduite par XPS. Le spectre complet ainsi que la décomposition des pics typiques de l'hydroxyapatite sont présentés dans les figures ci-dessous.

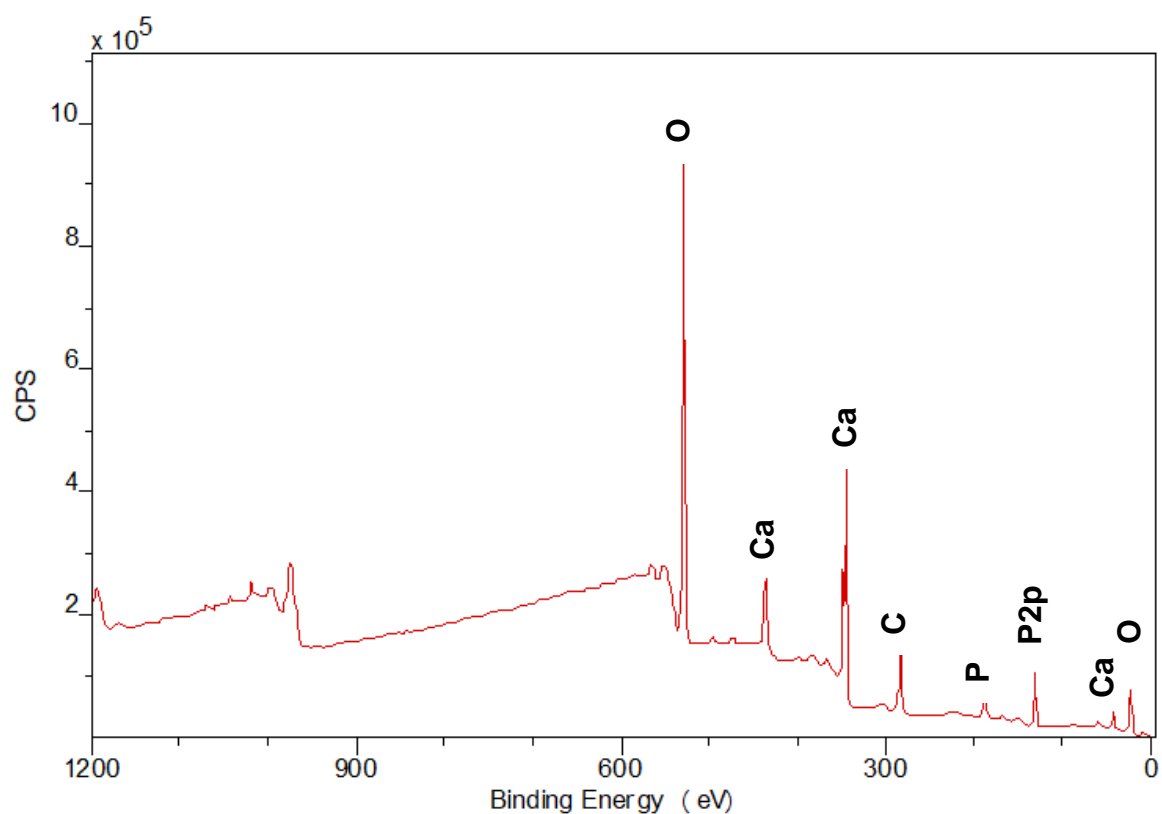


Figure 68: Spectre XPS de la surface d'HA vierge.

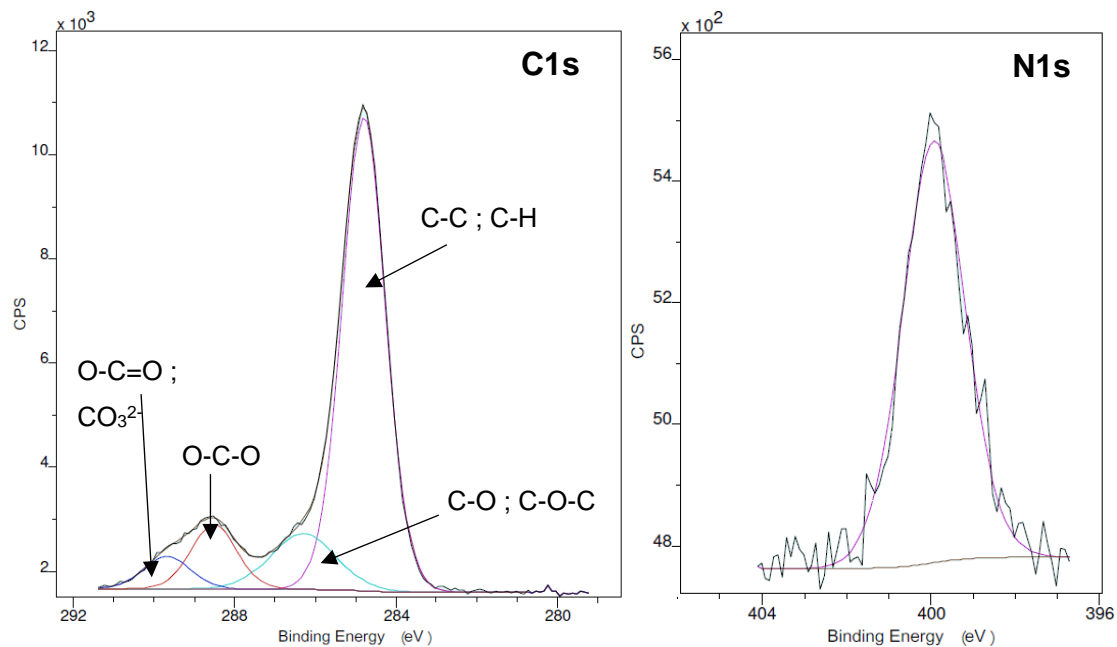


Figure 69: Pics XPS de l'HA: C1s et N1s.

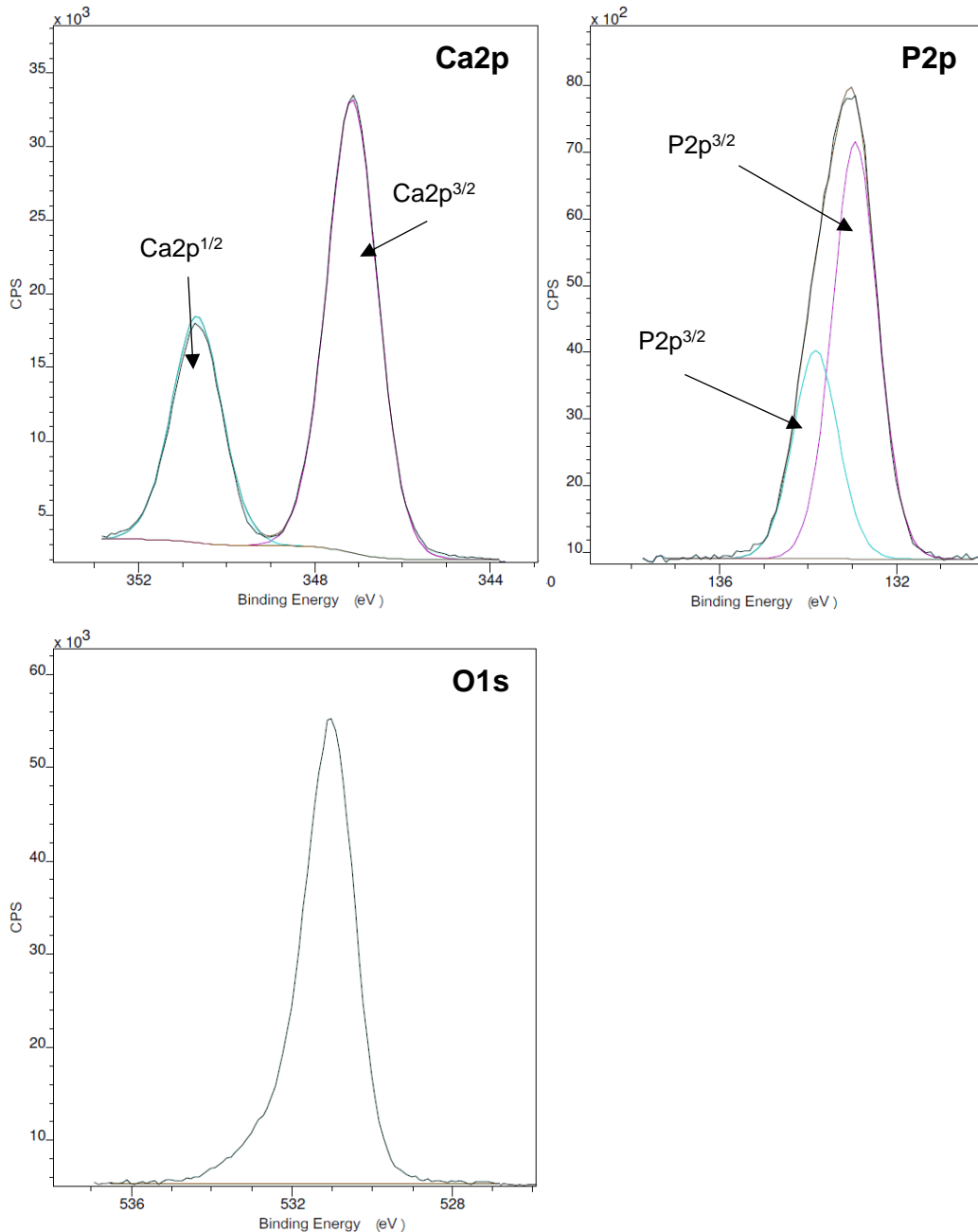


Figure 70: Pics XPS représentatifs de l'HA : O1s, Ca2p et P2p.

En plus des pics O1s, Ca2p et P2p relatifs à la phase d'HA (Lu et al., 2000), un pic C1s relatif à la pollution de surface (Gerin et al., 1995; Hozumi et al., 2004) est décomposé sur la figure 70. Cette pollution de surface est due à une adsorption d'impuretés d'hydrocarbures. Elle est inévitable à partir du moment où les échantillons entrent en contact avec l'air ambiant. Dans le cas du carbone, la décomposition du pic permet de déterminer les différents éléments avec lesquels le carbone a formé des liaisons en surface de l'échantillon, ce qui nous donne des informations plus précises sur la nature de la pollution. Elle est la somme de quatre contributions différentes dont 70 % sont des hydrocarbures. La seconde contribution correspond à des groupements

alcools ou éthers pour 13,9%. Il n'est pas à écarter la possibilité d'une contribution de la fonction éther du solvant de nettoyage (THF) dans cette pollution de surface. Le reste est attribué à des acétals pour 10,7% et à des carboxylates ou des ions carbonate pour 4,6% (tableau 21).

Composant	C-C ; C-H	C-O ; C-O-C	O-C-O	O-C=O ; (CO ₃) ²⁻
Energie de liaison (eV)	284,8	286,3	288,4	289,5
% aire de pic	70,7	13,9	10,7	4,6

Tableau 21: Analyses XPS des composants carbonés présents en surface d'un échantillon vierge ainsi que de leur énergie de liaison et de leur contribution en pourcentage. Pic C1s.

La décomposition des pics Ca2p, O1s et P2p permettent quant à eux un calcul des rapports Ca/P et O/Ca. Le rapport O/Ca est principalement utilisé pour la distinction des phosphates de calcium et ne nous est donc pas nécessaire ici. Le rapport Ca/P est cependant bien plus intéressant pour l'HA. Comme évoqué précédemment, un rapport de 1,67 correspond à une stœchiométrie parfaite du matériau et donc à une formule chimique Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂. La valeur obtenue avec cette analyse est de 1,56 après calcul avec les pourcentages en calcium et en phosphore (tableau 22), ce qui est inférieur à la valeur de 1,66 obtenue par DRX. Cette différence peut être expliquée par la profondeur d'analyse de l'XPS qui ne dépasse pas 10 nm. Cette valeur est donc moins représentative du matériau dans son ensemble et influencée par la pollution de surface évoquée. Le pic à 531 eV de O1s est attribué aux énergies de liaison des groupements PO₄³⁻ et de OH⁻. Quant au pic de N1s, son intensité faible pour une énergie de liaison de 400 eV ainsi que le pourcentage atomique de 1,1% révèlent une légère contribution de sa part dans la pollution de surface des hydrocarbures (Moulder et al., 1992).

Élément	O1s	C1s	Ca2p	P2p	N1s
Energie de liaison (eV)	531,0	284,8	347,1	132,9	400
% atomique	48,1	27,0	14,5	9,3	1,1

Tableau 22: Pourcentages atomiques et énergies de liaisons obtenus par XPS pour les éléments O1s, C1s, Ca2p, P2p et N1s.

(2) Diffraction des rayons X

Une humidité ambiante de 25% a été appliquée pendant les analyses DRX d'une pastille, les diffractogrammes sont présentés sur la figure 71. Le diffractogramme à sec ne présente pas de différence avec ceux sous 25% d'humidité après une, deux et trois heures. A partir de 4 heures d'humidité appliquée, il est observé une augmentation de l'intensité des pics ainsi que du bruit de fond. Cette observation est

vérifiée pour un retour à une humidité ambiante. L'augmentation de l'intensité des pics implique une cristallisation de l'échantillon. En effet, si les pics voient leur intensité augmentée, c'est qu'il a été détecté une augmentation du nombre de plans qui diffractent et ce, pour tous les pics des diffractogrammes de façon homogène. En revanche, l'augmentation du bruit de fond est en désaccord avec cette explication. S'il y a eu cristallisation, le bruit de fond devrait au contraire diminuer du fait de la disparition d'une phase amorphe.

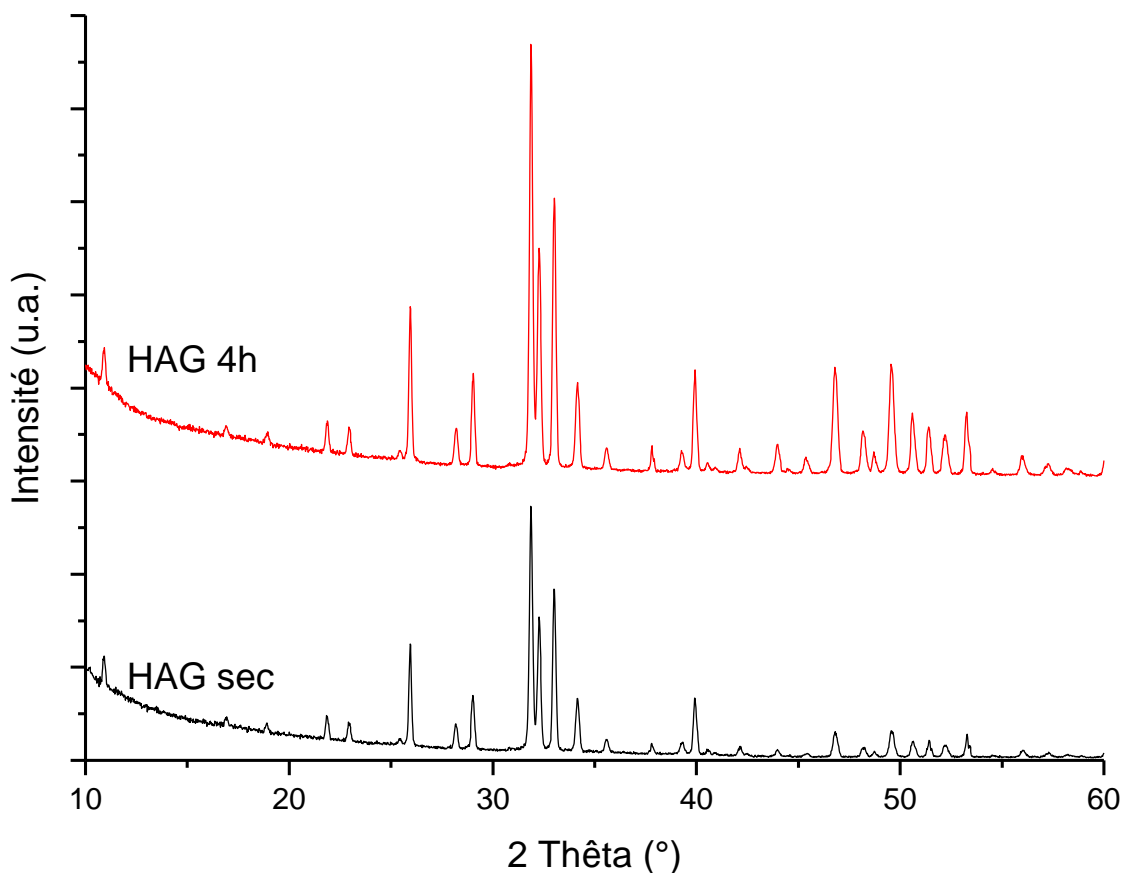


Figure 71: Diffraction patterns of HAG69 sec (black) and after 4h (red) under a humidity of 25% prolonged up to 6 hours.

In order to solve this problem, the use of a witness that will not be influenced by the humidity conditions is added to the sample. To do this, it is necessary to make a mixture and therefore reduce to the powder state a tablet. The diffraction patterns of HAG51 in powder form and of the tablet HAG52 are presented in figure 72.

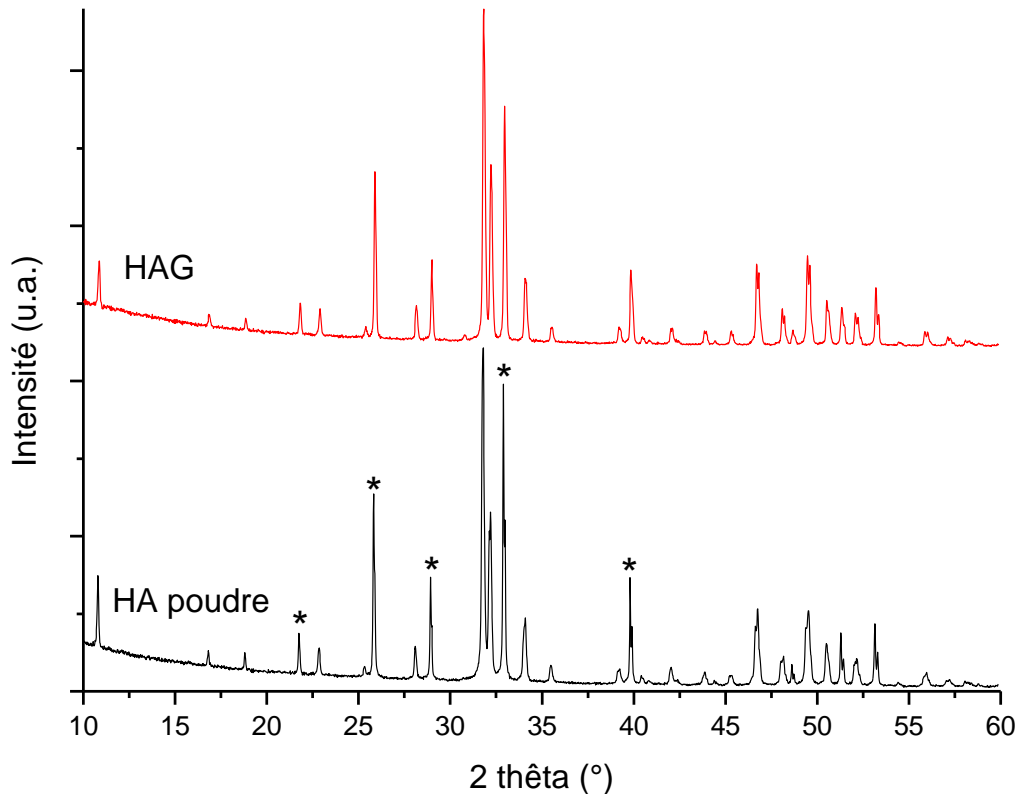


Figure 72: Diffractogrammes d'une pastille HAG sous forme de poudre et d'une pastille HAG. Les pics marqués par « * » ont une intensité plus élevée sous la forme de poudre.

Les diffractogrammes sont quasiment identiques, une intensité plus grande est observée pour les plus grands pics de la phase d'HA. Ceci est dû au mode de préparation de HAG51. La poudre est disposée dans un support puis tassée afin d'obtenir une surface plane. Un échantillon idéal posséderait une orientation des cristallites équiprobable, or l'aplanissement de la surface va conduire à une orientation préférentielle de certains plans. Ce phénomène se traduit par le fait que certaines réflexions sont plus intenses que d'autres et induisent la différence d'intensité des pics de DRX entre la poudre et la pastille.

Maintenant que nous nous sommes assurés que la poudre est bien représentative de l'échantillon sous forme de pastille, le témoin d'alumine Al_2O_3 est ajouté à hauteur de 10% et 30% en masse. Une quantité de 10% en masse n'est pas suffisante comme on peut le voir sur la figure 73 où l'intensité des pics de la phase d'alumine ne se démarque pas assez de celle de HA. En revanche, avec un mélange de 30% d'alumine, les pics caractéristiques sont facilement observables, ce qui nous permettra une bonne distinction entre les deux phases si une différence est notable pour la phase HA.

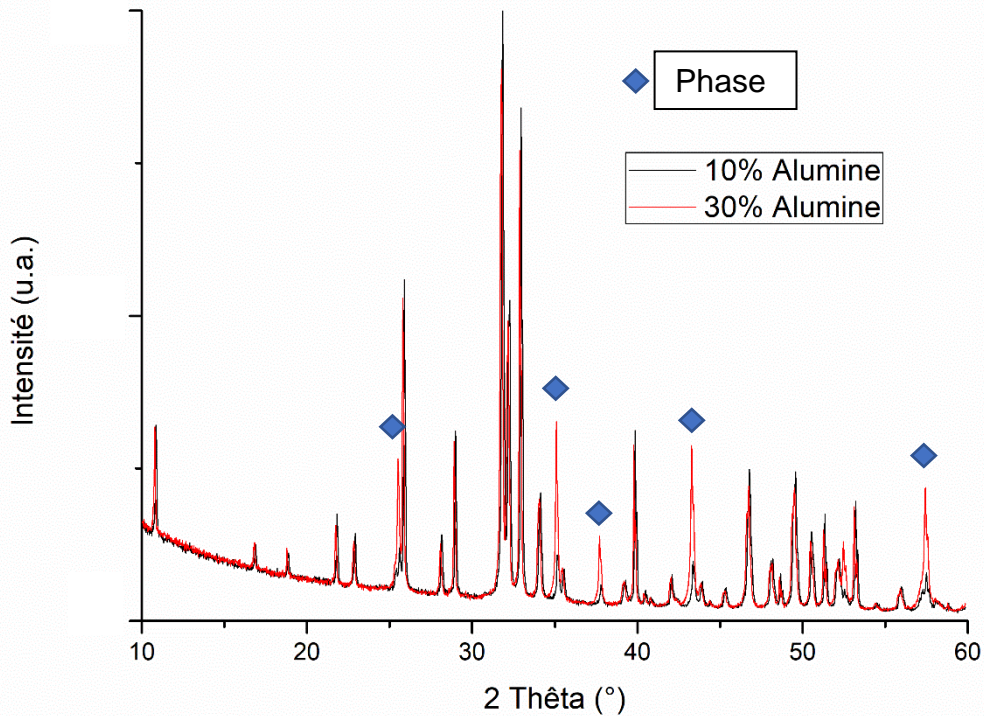


Figure 73: Diffractogrammes de mélanges de poudre d'HA avec 10 et 30% d'alumine en masse.

C'est donc un mélange avec 30% d'alumine qui sera utilisé pour les analyses DRX en humidité augmentée avec la poudre de HAG69. Après un premier diffractogramme sans modification d'humidité, 5 diffractogrammes sous 25% d'humidité ont été produits avec une heure d'intervalle entre chacun ainsi qu'un dernier pour un retour à l'état initial. Trois diffractogrammes correspondant au mélange poudre/ Al_2O_3 sont présentés figure 74 qui font référence à trois moments différents de l'analyse. Le diffractogramme a) correspond à un état sec par placement dans l'enceinte d'analyse à 65°C pendant une heure. Le diffractogramme b) après 5 heures sous une humidité de 25% et le diffractogramme c) après un retour à l'état initial sec. Ils sont superposables et ne présentent donc pas de différences d'intensité ou de largeur de pic. Que ce soit pour la phase d'alumine ou la phase d'HA, aucune modification de cristallinité n'est observable. Les analyses précédentes présentent donc un phénomène qui a induit en erreur la machine à partir de 4 heures sous humidité. La cristallinité des échantillons n'est pas impactée par une exposition plus ou moins longue de la surface par de l'eau.

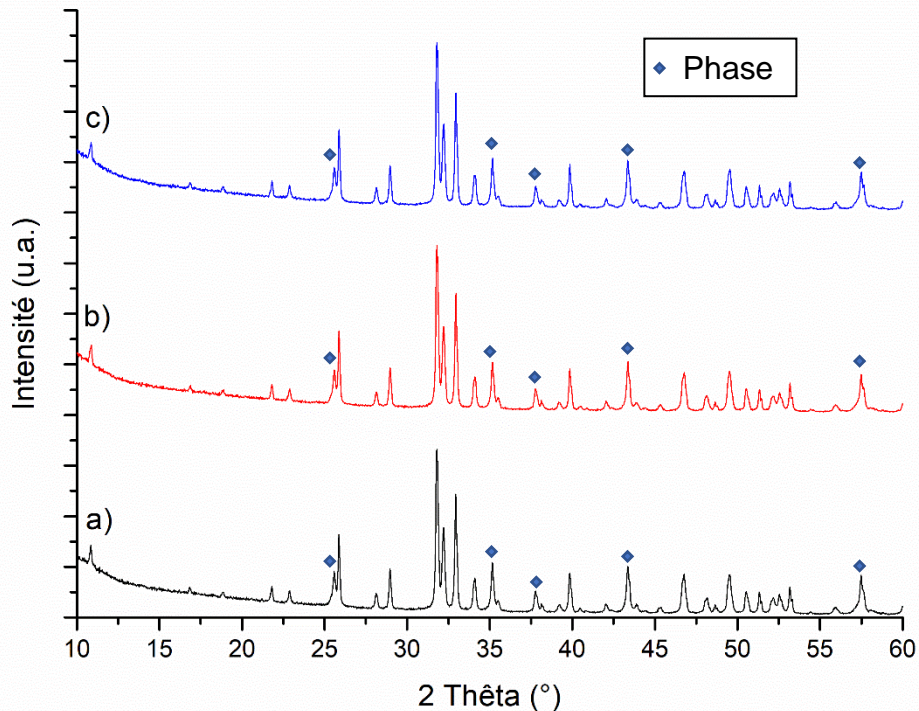


Figure 74: Diffractogrammes du mélange 30 % en masse d'alumine et 70% d'HA. a) à sec (1h à 65°C). b) après 5 h sous 25% d'humidité. c) Retour à l'état initial sec.

Il est possible qu'une modification soit détectable uniquement dans les premières couches atomiques de la surface des échantillons. Le fait d'analyser une trop grande surface ne permettrait pas de mettre en valeur un tel phénomène qui serait « noyé » dans les informations de bonne cristallinité en profondeur du matériau.

Une analyse de couches minces (quelques couches atomiques) est réalisée sur HAG65 qui a subi 40 mesures d'angles de goutte consécutives en son centre. HAG70 est pris comme référence pour pouvoir déterminer une modification. Au vu des diffractogrammes (figure 75), il est à nouveau constaté l'absence d'influence de l'eau sur la cristallinité des surfaces. Les pics de plus grandes intensités ont certes une intensité plus grande pour HAG65, mais cela n'est pas représentatif de l'impact de l'eau puisque la majeure partie des deux diffractogrammes est superposable. Cela est dû principalement à l'échantillon lui-même qui, dans les conditions où il a été positionné pour l'analyse, a conduit à des orientations préférentielles pour ces plans.

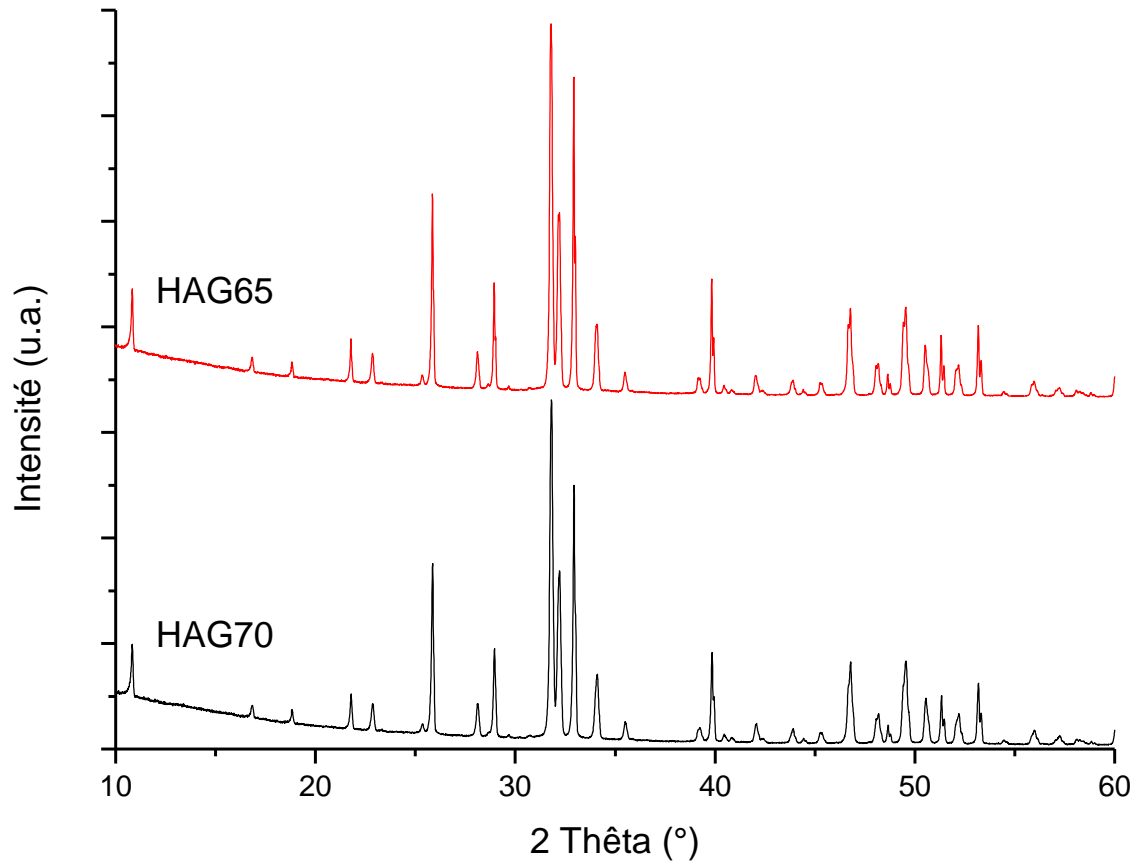


Figure 75: Diffractogrammes de HAG65 ayant subi des mesures d'angles de goutte dans la zone d'analyse (centre) et HAG70 comme référence.

(3) Spectroscopie Raman

Afin de reproduire les conditions de surface pendant les mesures d'angles de goutte, des analyses Raman sont faites sur des surfaces avant et après dépôt de gouttes d'eau. Dans un premier temps, les deux états extrêmes de surface sont étudiés à savoir avec le dépôt d'une goutte et le dépôt de 40 gouttes. Les spectres des pastilles HAG50 et HAG56 sur la figure 76 et la figure 77 reflètent respectivement ces résultats. Les 5 spectres sont pris à différents endroits du centre de la pastille de façon à rester dans la zone humidifiée par la ou les gouttes d'eau. Il n'est observé aucune différence entre les échantillons que ce soit après le dépôt d'une goutte ou vingt et leur état initial sans dépôt.

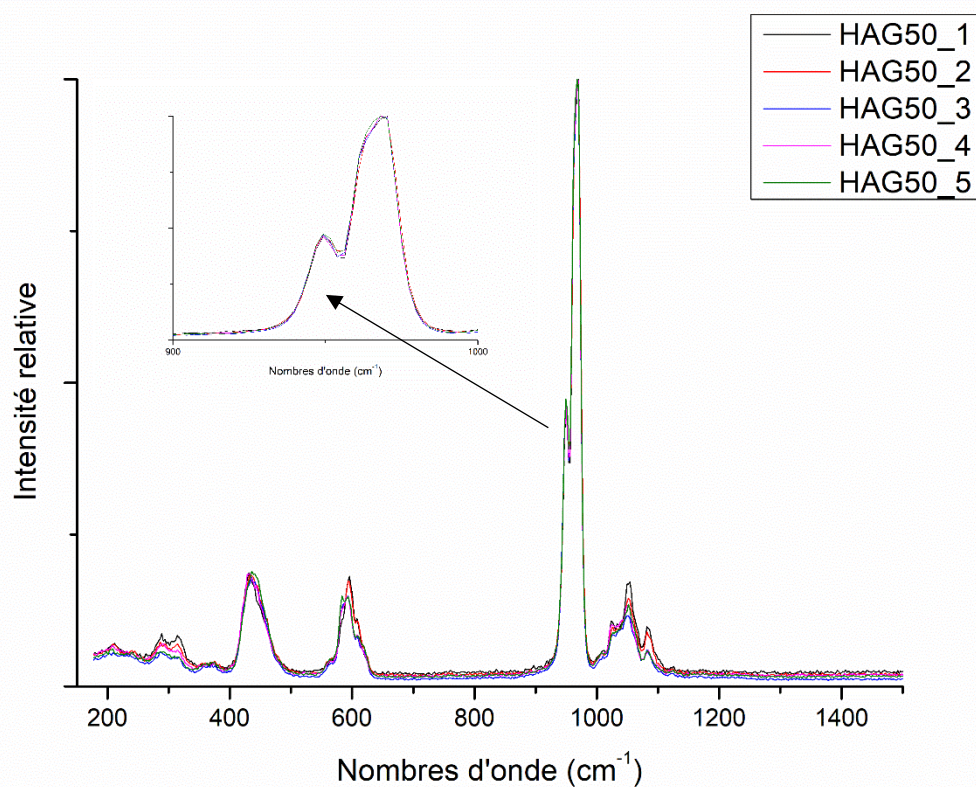


Figure 76: Spectre Raman de HAG50 ayant reçu une goutte d'eau sur la surface analysée.

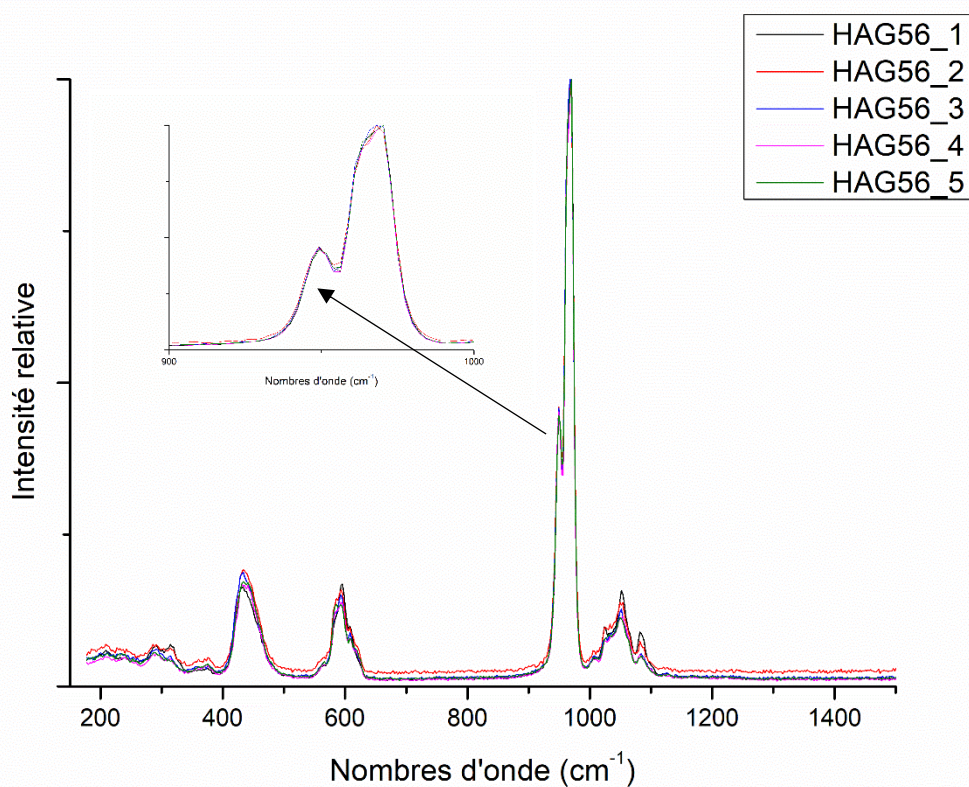


Figure 77: Spectres Raman de HAG56 ayant reçu vingt gouttes d'eau sur la surface analysée.

A la vue de ces résultats, des analyses dans des conditions exagérées de contact avec l'eau ont été conduites. Le trajet du faisceau incident est complètement immergé et la surface se trouve en permanence en contact avec l'eau pendant les 3 heures d'analyse (chap Chapitre II:C.4 figure 9). Les différents spectres sont disponibles sur les deux figures qui suivent (figure 78 et figure 79).

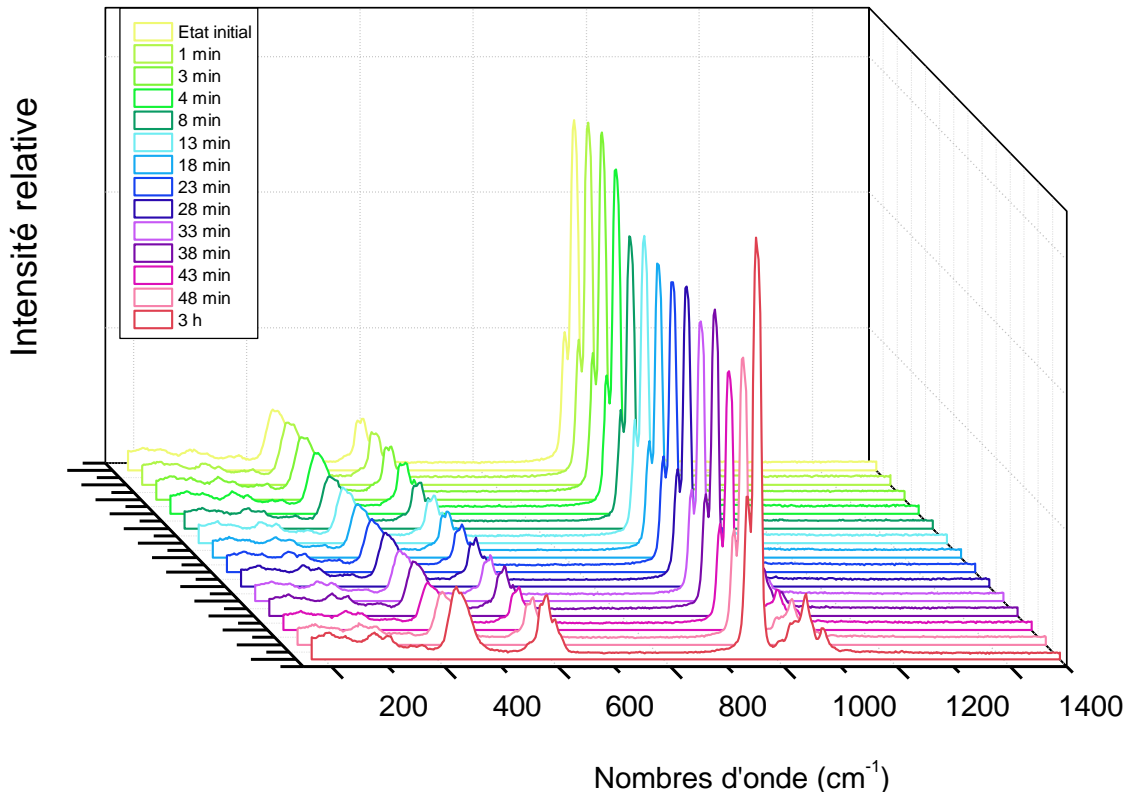


Figure 78: Regroupement des spectres Raman durant la cinétique de mesures dans des conditions d'immersions de la surface analysée et du faisceau incident.

Dans ces conditions d'analyses, les variations d'intensité de pics ne peuvent pas être prises en compte comme paramètres révélant une modification dans le matériau. Ces variations sont impactées par la quantité d'eau en surface des matériaux. Or cette quantité a beaucoup évoluée pendant les 3 heures d'analyses à cause de son évaporation. Il a donc été nécessaire d'en ajouter tout au long des mesures.

A l'aide des diffractogrammes, il peut être conclu que dans notre cas, aucune modification structurale des grains n'est influencée par un contact avec de l'eau. (Zheng et al., 2013) ont mis en lumière cette possibilité sur de l'émail dentaire. Un des paramètres qui pourrait expliquer cette différence de résultats est la taille des grains

qui dans le cas de l'émail dentaire sont nanométriques. Ils seraient donc plus sujet à des changements que les grains micrométriques des céramiques étudiées.

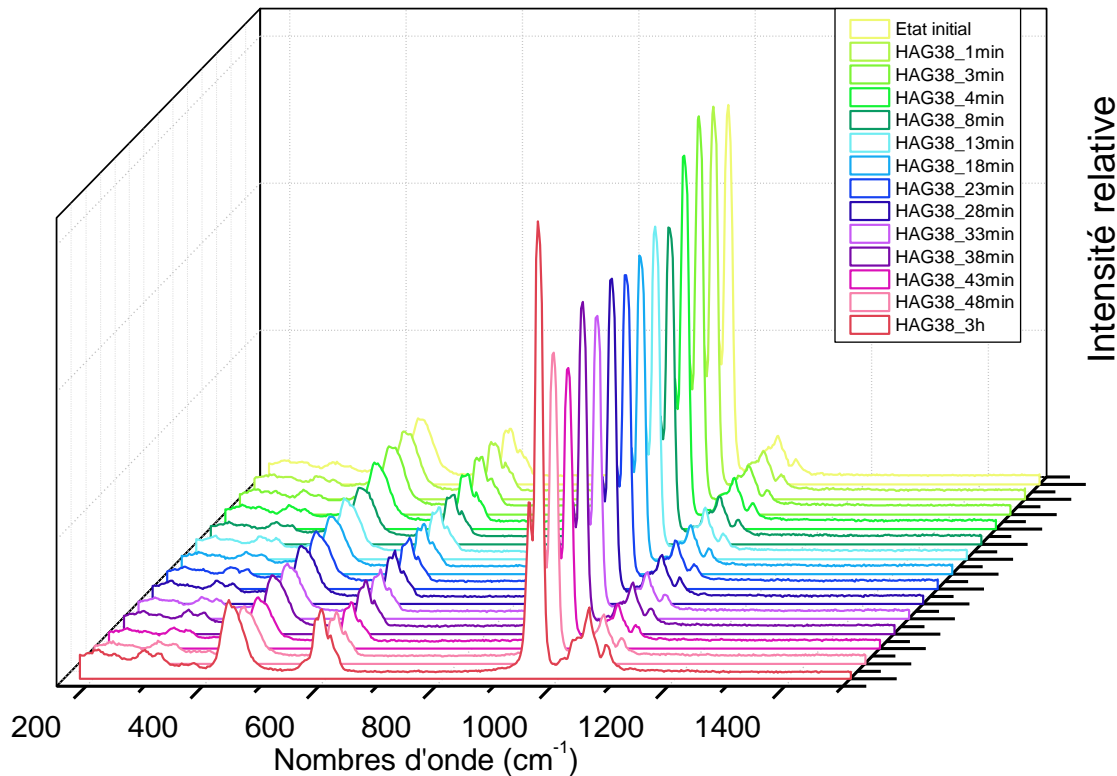


Figure 79: Orientations différentes du regroupement des spectres Raman durant la cinétique de mesures dans des conditions d'immersions de la surface analysée et du faisceau incident.

d) Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges stockées en dessiccateur

Tous les résultats précédents permettent d'aborder le suivi dans le temps des mesures d'angles de goutte à répétition sur les surfaces avec plus d'assurance. Après avoir conclu à l'absence d'influence de l'eau que ce soit sur la cristallinité du matériau ou à une formation de phase non désirée, la répétabilité initiale du protocole de préparation et de stockage des surfaces va nous aider à déterminer plusieurs points. Des valeurs initiales reproductibles vont assurer une distinction claire entre un état vierge et un état traité. Le suivi de l'évolution des angles de contact sera également de ce fait plus pertinent. Il est présenté sur la figure 80.

Pour les premières mesures consécutives, une évolution continue est observable avec des valeurs qui augmentent progressivement à chaque nouvelle goutte d'eau déposée. Il est observé après une quinzaine de mesures une variation non désirée. La continuité de la courbe est rompue par la chute des valeurs mesurées. Ce

phénomène est dû à une variation d'un paramètre, la zone de mouillage. Jusqu'alors, la même zone sur la surface de la pastille était mouillée. Un étalement de la goutte dans une direction préférentielle a altéré cette condition et provoque cette variation dans la continuité des mesures. Ceci est possiblement dû à un état de saturation de la zone étudiée en eau mais également du dépôt de la goutte pas exactement au même endroit que précédemment (erreur manipulative ou du dispositif). Toutefois, quelques mesures suffisent à retrouver une évolution continue. Après une trentaine de mesures, ce phénomène est à nouveau observé et se dissipe de la même manière pour atteindre les valeurs plateaux de $85\pm 5^\circ$. Dans une évolution théorique sans erreurs possibles de mesures, les valeurs d'angles augmenteraient progressivement jusqu'aux valeurs plateaux sans variation importante.

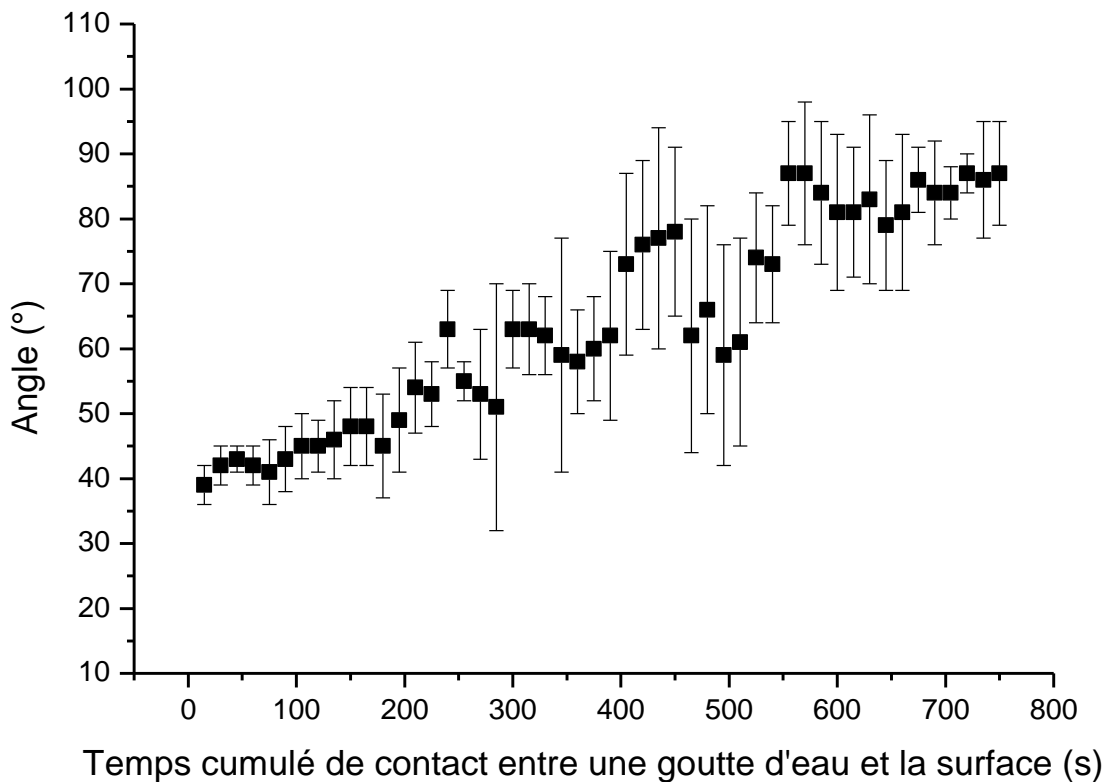


Figure 80: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges

	Pastilles vierges
Valeurs d'angles de goutte initiales	$38\pm 2^\circ$
Valeurs d'angles plateaux	$85\pm 5^\circ$
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	$47\pm 5^\circ$

Figure 81: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les mesures d'angles de goutte consécutives sur des surfaces vierges.

Les différentes techniques de caractérisations physico-chimiques utilisées qui sont l'utilisation de goniomètres, la profilométrie, la spectroscopie Infrarouge, la spectroscopie Raman, la diffraction des rayons X, la microscopie électronique à balayage, la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie, la spectrométrie de masse des ions secondaires à temps de vol et la spectroscopie photoélectronique à rayons X nous ont fourni plusieurs informations. Elles nous ont renseigné sur de possibles différences chimiques entre les échantillons. Un lot a été confectionné avec succès pour remplir les attentes d'homogénéité entre chaque pastille. Un protocole de nettoyage et de stockage des pastilles vierges a pu être mis en place. Il permet une reproductibilité de toutes les caractérisations utilisées dans cette thèse. L'une d'entre elle consiste à un dépôt de gouttes d'eau en surface à répétition, des analyses dans des conditions d'humidité excessive ont prouvé que ceci n'allait pas impacter de façon néfaste les surfaces. La reproductibilité des surfaces nécessaire pour une comparaison avec des états traités a donc pu être établie.

Chapitre IV : Traitement de surfaces des pastilles

Chapitre IV: Traitement par irradiation des surfaces des pastilles

Nous allons maintenant nous intéresser à la modification des surfaces par traitement des différents lots d'échantillons dont nous disposons ainsi qu'à leur analyse. Il s'agira de déterminer les différences chimiques ou structurales induites par ledit traitement. Pour ce faire, l'état de surface vierge défini précédemment sera utilisé comme référence pour l'état initial. Les mêmes techniques de caractérisations seront alors conduites après traitement. Il s'agit des goniomètres, de la profilométrie, de la spectroscopie Infrarouge, de la spectroscopie Raman, de la diffraction des rayons X, de la microscopie électronique à balayage, de la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie, de la spectrométrie de masse des ions secondaires à temps de vol et de la spectroscopie photoélectronique à rayons X. Elles révèlent de possibles modifications.

Il est question de l'influence du protocole de préparation des surfaces pour les mesures de mouillabilité, de comparaison entre les surfaces vierges avec les surfaces traitées dans des conditions précises ainsi que les effets de dose et d'atmosphère de traitement.

A. Irradiation électronique

Nous commençons sur les anciennes pastilles Ech dont l'historique est inconnu. Afin de déterminer si la reproductibilité des irradiations sur les pastilles est admissible, il a été choisi dans un premier temps de se focaliser sur l'irradiation électronique.

Plusieurs différences peuvent être mis en lumière en distinguant le type d'échantillon, la dose appliquée pendant le traitement et l'atmosphère de travail. Ces différents points sont abordés.

1. Influence du protocole de préparation des surfaces

Les pastilles Ech ont fait l'objet d'une étude de l'impact d'une irradiation électronique dans l'attente des lots spécifiquement préparés pour la réalisation de cette thèse. Elles permettent donc d'observer quelques phénomènes induits par cette irradiation.

La dose d'irradiation maximale de la machine est subie par les pastilles Ech soit 975 kGy avec une tension d'accélération des électrons de 180 kV. Les premières expériences sont conduites à l'aide de Ech6 et Ech12. L'évolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps de ces échantillons irradiés et non irradiés est

présentée dans la figure 82 qui suit. Au premier abord, l'irradiation a conduit à une diminution des valeurs d'angles de goutte initiales aux alentours de 40° (supérieur à 55° sans irradiation). L'allure des courbes des surfaces irradiées s'en trouve modifiée par rapport aux surfaces vierges avec des valeurs d'angles en fonction du temps qui restent inférieures. Le phénomène de « saut de valeurs » reste néanmoins présent dans les deux cas et est toujours dû à un problème de mesures lors du dépôt d'une goutte qui n'est pas exactement au même endroit que la précédente. Les surfaces irradiées montrent une hydrophilie plus forte tout au long des mesures.

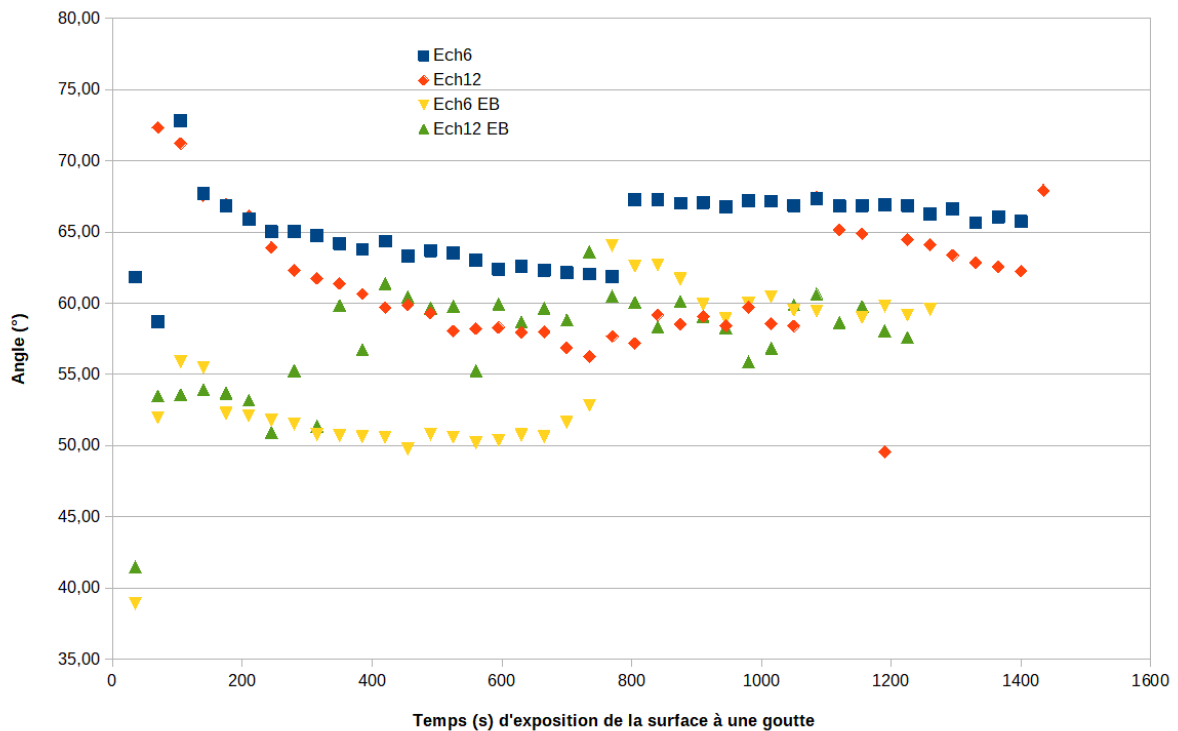


Figure 82: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur Ech6 et Ech12 vierges et après irradiation électronique (EB).

Si l'on étend cette étude à deux autres échantillons qui sont Ech13 et Ech14, il est observé un autre phénomène après irradiation électronique. Les valeurs d'angles de goutte initiales chutent comme précédemment mais après trois mesures consécutives, les valeurs plateaux de stabilisation sont atteintes. L'irradiation a entraîné comme précédemment une chute de l'hydrophilie de surface mais celle-ci ne s'est pas maintenue comme pour le cas de Ech6 et Ech12. Ceci est illustré par la figure suivante (figure 83). Sur cette dernière, il est également représenté de nouvelles mesures d'angles consécutives après 10 heures de stockage (nuages de points gris). Pour les deux pastilles, les premières valeurs d'angles ne sont plus basses comparé à celles des échantillons vierges. Toutefois, les valeurs de plateaux sont atteintes dès la

seconde mesure, traduisant la présence d'un léger impact de l'irradiation sur la surface qui s'est estompée rapidement.

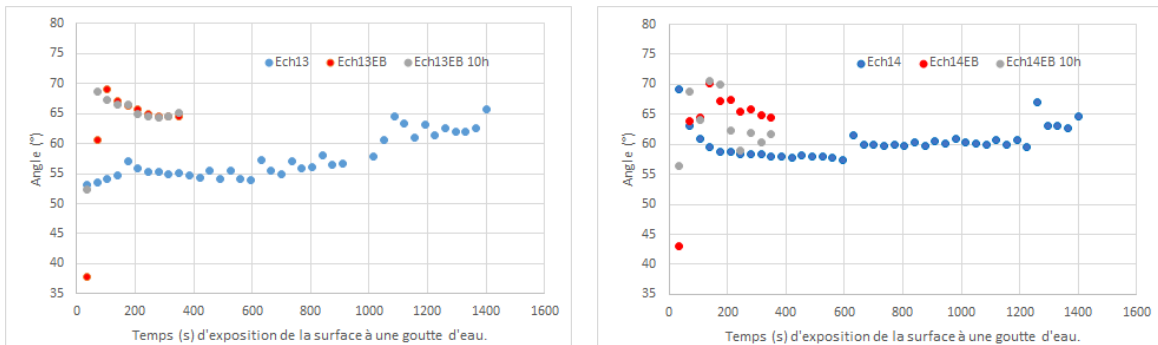


Figure 83: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur Ech13 et Ech14 vierges, après irradiation électronique (EB) et 10 heures de stockage après irradiation électronique.

Ech13 présente une meilleure reproductibilité entre les deux états irradiés observable par la superposition des mesures d'angles dans le temps. La surface de la pastille atteint donc son état stable de saturation en eau très rapidement.

Pour les mêmes paramètres de traitements, une toute autre allure est obtenue pour les échantillons stockés en dessiccateur (voir Figure 84)

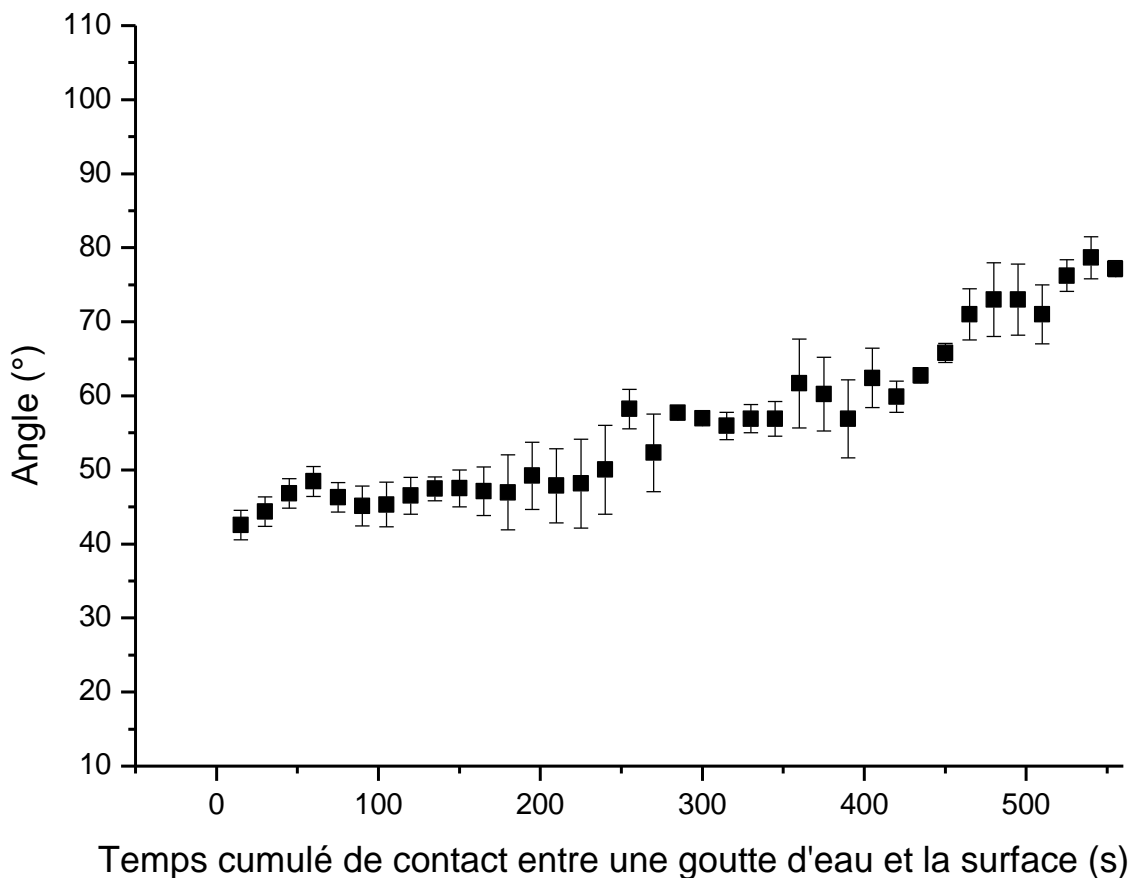


Figure 84: Evolution des angles de contact pour des pastilles HAG irradiées à une dose de 975 kGy.

Les valeurs d'angles initiales de ce mode de stockage sont proche de 40°, il n'est donc pas possible d'observer de modification significative de la mouillabilité de surface après irradiation pour la dose minimale dans ce cas de figure. La faible dose ne semble pas assez élevée pour avoir un impact sur ces surfaces vierges.

Le protocole de stockage en dessiccateur permet une reproductibilité dans ces mesures entre les échantillons même après la réalisation d'un traitement de surface. Le stockage en étuve illustré avec les pastilles Ech nous montre une nouvelle fois qu'il n'est pas adapté pour l'obtention d'un état de surface reproductible entre les échantillons, ce qui impacte les valeurs expérimentales après un traitement.

L'intérêt d'un état de surface connu et reproductible entre les échantillons est également illustré par cette expérimentation. Après l'étude d'homogénéité de surface (figure 7) avec un stockage étuve (tableau 11 et tableau 12) qui n'a pas été concluante, celle-ci a été répétée après irradiation électronique afin de savoir si elle peut y remédier. Les valeurs sont présentées dans le tableau 23.

Pastille	Valeurs d'angles (°) initiales à différents endroits de la surface					Moyenne (°)	Ecart-type (°)
HAG15EB	52	57	47	58	57	54	4
HAG16EB	40	38	45	35	40	39	2
HAG17EB	31	36	31	30	33	32	2
HAG18EB	37	43	42	50	48	44	4
HAG19EB	31	43	37	40	40	38	4
HAG20EB	36	36	39	37	37	37	1
HAG21EB	55	53	33	61	48	50	8
HAG22EB	32	40	44	50	42	41	5

Tableau 23: Valeurs de répétabilité d'angles de goutte initiales à la surface de pastilles irradiées à une dose de 40 kGy (tension d'accélération à 180 kV).

La disparité des valeurs avant irradiation est retrouvée également après. Les moyennes de ces 5 valeurs d'angles de goutte prises à différents endroits de la surface des pastilles ne sont pas reproductibles. Une différence maximale de 22° entre des échantillons traités de la même façon est obtenue traduisant que l'irradiation électronique est bien dépendante de l'état de surface initiale. Il est donc bien primordial d'appliquer le protocole strict de stockage en dessiccateur qui permet de partir d'une surface avec une reproductibilité de mesure d'angles de goutte fiable.

2. Effets de dose

Le paramétrage de la machine Comet permet un large choix de doses applicables. Les différentes doses étudiées dans ce travail sont regroupées dans le tableau suivant.

Chapitre IV: Traitement par irradiation des surfaces des pastilles

Dose (kGy)	Voltage (kV)	Intensité (mA)	Pénétration uniforme (μm)
40	180	1	20
975	110	20	1
460	180	12,5	20
640	180	15	10

Tableau 24: Paramètres des traitements de surface électronique.

Les doses de 40 kGy et de 975 kGy correspondent respectivement à la dose minimale et maximale applicable par la machine. Les doses intermédiaires de 460 et 640 kGy ont été choisies en fixant une tension d'accélération des électrons maximale dans le but de favoriser les interactions entre ces derniers et la surface.

Si l'on se réfère au tableau 25 qui contient les moyennes des valeurs initiales, il n'est pas observé de modification de la mouillabilité de surface après irradiation pour la dose minimale. La faible dose ne semble pas assez élevée pour avoir un impact sur les surfaces vierges.

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous air	Pastilles irradiées sous N_2
Valeurs d'angles de goutte initiales	$38 \pm 2^\circ$	$41 \pm 2^\circ$	$42 \pm 2^\circ$
Valeurs d'angles plateaux	$85 \pm 5^\circ$	$83 \pm 2^\circ$	$82 \pm 2^\circ$
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	550 s	550 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	$47 \pm 5^\circ$	$42 \pm 2^\circ$	$40 \pm 2^\circ$

Tableau 25: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 40 kGy (tension d'accélération de 180 kV).

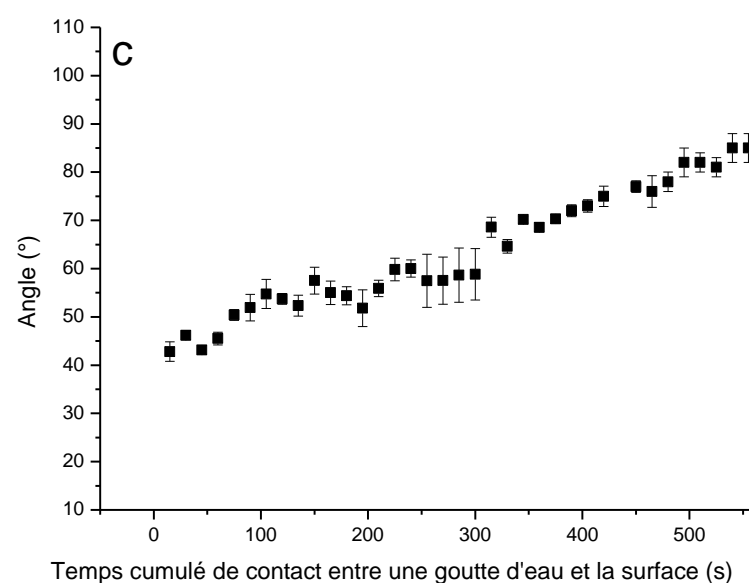
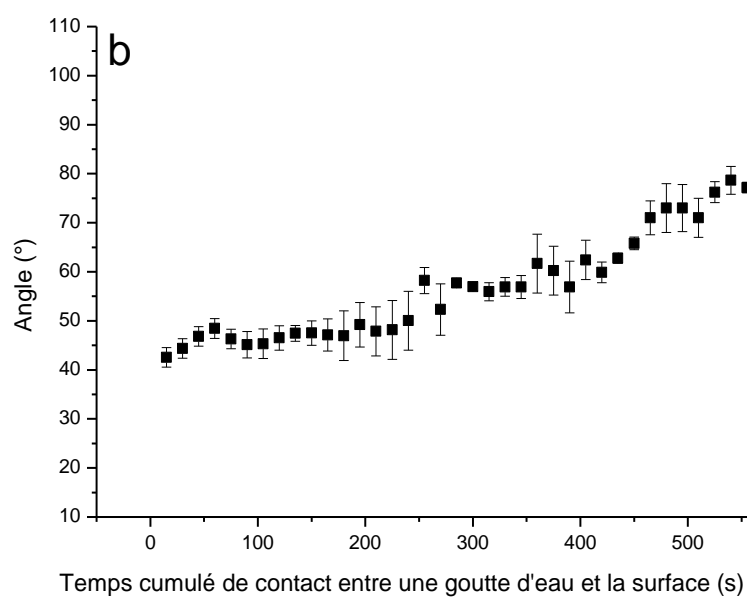
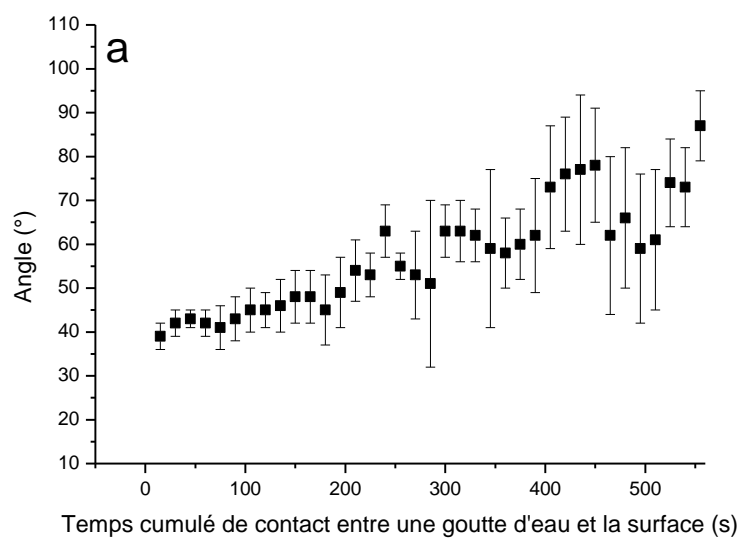


Figure 85: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 40 kGy.

Dans le cas des irradiations sous air, il pourrait être incriminées les interactions des électrons avec l'oxygène. Une partie des électrons servirait à la création d'ozone, ce qui n'en laisserait pas assez pour induire des modifications suffisantes sur les surfaces. Néanmoins, les mêmes résultats sont obtenus sous atmosphère d'azote, un gaz inerte.

Si l'on observe maintenant l'évolution des valeurs dans le temps, une même conclusion peut en être tirée (figure 85). Une évolution continue comme les surfaces vierges est visible. Les valeurs d'angles de goutte augmentent progressivement à chaque nouvelle mesure. Les valeurs plateaux sont atteintes au même moment, comme si aucune irradiation n'avait été effectuée sur ces surfaces.

En ce qui concerne la dose maximale de 975 kGy, qui ne peut être délivrée à 100% que sur 1 μm de profondeur, une modification est observée illustrée sur la figure 86. Dans un premier temps, il est observé une diminution des valeurs initiales pour les surfaces traitées sous air ou bien sous azote (tableau 26).

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous air	Pastilles irradiées sous N₂
Valeurs d'angles de goutte initiales	38 \pm 2°	32 \pm 1°	32 \pm 2°
Valeurs d'angles plateaux	85 \pm 5°	80 \pm 2°	83 \pm 2°
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	360 s	420 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	47 \pm 5°	48 \pm 2°	51 \pm 2°

Tableau 26: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 975 kGy (tension d'accélération de 110 kV).

Sur les courbes d'évolution présentes sur la figure 86, une forte pente due à une augmentation rapide des valeurs de θ dans les premières mesures est visible pour les surfaces irradiées. Dans ces conditions d'irradiation, il n'est pas observé de grandes différences entre les mesures des surfaces irradiées sous air et sous azote. La variation d'angles de goutte des pastilles irradiées est susceptible d'atteindre plus facilement un plateau de stabilisation. La stabilisation des surfaces sera donc plus rapide dans ce cas de figure.

Que ce soit pour la dose minimale ou maximale du dispositif, les phases cristallines ne sont pas influencées par une telle irradiation, les diffractogrammes sont identiques aux précédents (voir figure 107 et figure 113). La rugosité de surface par profilométrie mène toujours à des valeurs de Ra égales 0,10 μm . Enfin les états de surface par imagerie MEB sont comparables à celles des irradiations UV et plasma qui n'ont pas présenté de modifications apparentes (figure 108 et figure 114 respectivement).

Les conditions extrêmes d'irradiation de la machine ont été étudiées. Les résultats ne montrent aucune différence entre un état de surface vierge et dans des conditions d'irradiations minimales pour toutes les techniques de caractérisations employées. Seule une hydrophilie accrue des surfaces est obtenue après application de la dose maximale de 975 kGy (diminution de θ de $38\pm 2^\circ$ à $32\pm 1^\circ$ et $32\pm 2^\circ$). Les caractérisations physico-chimiques ne montrent aucune autre différence significative, indiquant que l'irradiation n'a d'impact que sur la charge de surface du matériau. Une forte augmentation des valeurs d'angles dans les premières mesures révèle une pente, synonyme d'une neutralisation de cette dernière très rapidement pour un retour à des valeurs plateaux de stabilité. Il est donc obtenu des valeurs d'hydrophilie de surface déjà très avancées pour un temps d'irradiation court (une seconde). Une chute des valeurs d'angle de goutte à une vingtaine de degrés est obtenue alors qu'il faut des irradiations de plusieurs minutes dans certaines publications pour obtenir de tels résultats. Il est également intéressant de noter que lors de nos expérimentations, nous ne sommes pas contraints de travailler dans des conditions de vide poussé.

Au vu des résultats précédents sur la dose minimale de la machine, une étude complémentaire est réalisée en appliquant la dose maximale possible avec une tension d'accélération des électrons maximale de 180 kV. Ceci dans le but de mieux impacter la surface traitée avec une pénétration uniforme de la dose à une profondeur de 20 μm .

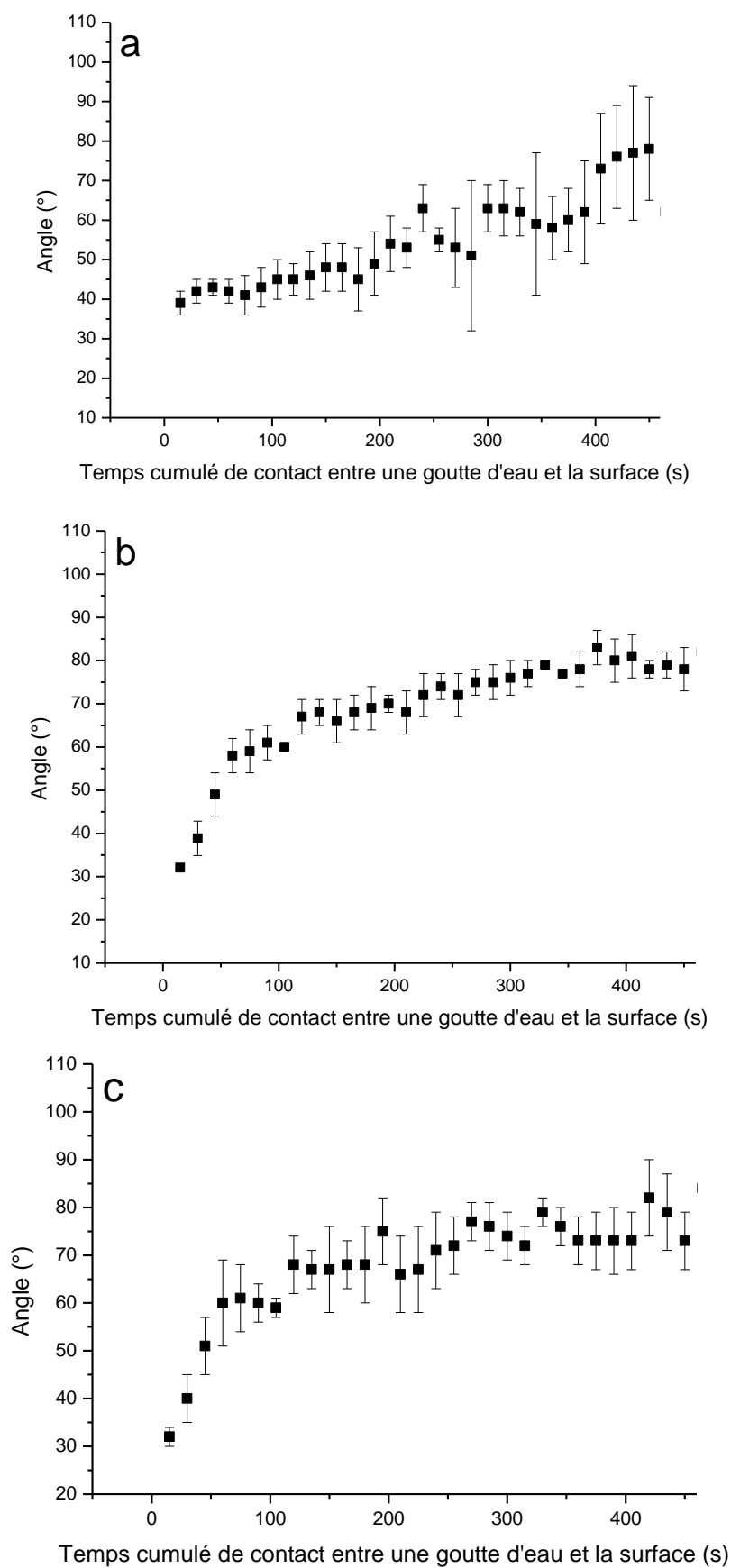


Figure 86: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 975 kGy.

Cette fois-ci, un impact sur la mouillabilité de surface est observé dans les deux cas avec une surface plus hydrophile ($19\pm 3^\circ$) pour une irradiation sous air que pour une irradiation sous azote ($31\pm 3^\circ$).

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous air	Pastilles irradiées sous N₂
Valeurs d'angles de goutte initiaux	38±2°	19±3°	31±3°
Valeurs d'angles plateaux	85±5°	80±3°	79±4°
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	360 s	300 s*
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	47±5°	61±3°	48±4°

Tableau 27: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 460 kGy (tension d'accélération de 180 kV).

Il est également observé une différence sur l'évolution des valeurs d'angle de goutte dans le temps (figure 87). Les irradiations électroniques dans différentes conditions d'atmosphère adoptent une évolution plus rapide par rapport aux surfaces vierges. L'apparition d'une pente dans les premières valeurs est encore une fois visible dans les deux cas. Les valeurs plateaux sont atteintes plus rapidement dans les deux cas également avec une rapidité légèrement plus marquée pour les irradiations sous azote. Il n'est là question que de deux valeurs de différence et le saut de valeur (tableau 27,*) prononcé est possiblement dû à un phénomène d'étalement dans des directions préférentielles comme expliqué précédemment. Ce point ne semble donc pas être très significatif. La rapidité d'atteinte des valeurs plateaux ne peut donc pas être pris comme un résultat significatif.

La meilleure hydrophilie de surface des irradiations sous air pourrait s'expliquer par la présence de l'oxygène durant le traitement. (Moriguchi et al., 2018) font référence durant leur irradiation par plasma sous une atmosphère He/O₂ à des interactions de la surface avec des atomes d'oxygène. Des atomes d'oxygène seraient incorporés en surface des céramiques d'HA traitées sous la forme de groupements hydroxyle OH⁻ interagissant avec les atomes de calcium chargés positivement sur la surface d'HA. La charge de surface des pastilles traitées sous air pourrait donc être influencée par ce phénomène en plus des états d'excitations des éléments en surface, ce qui expliquerait une charge de surface plus importante dans ces conditions. Encore une fois, aucune modification de cristallinité ni de rugosité n'est observée après irradiation.

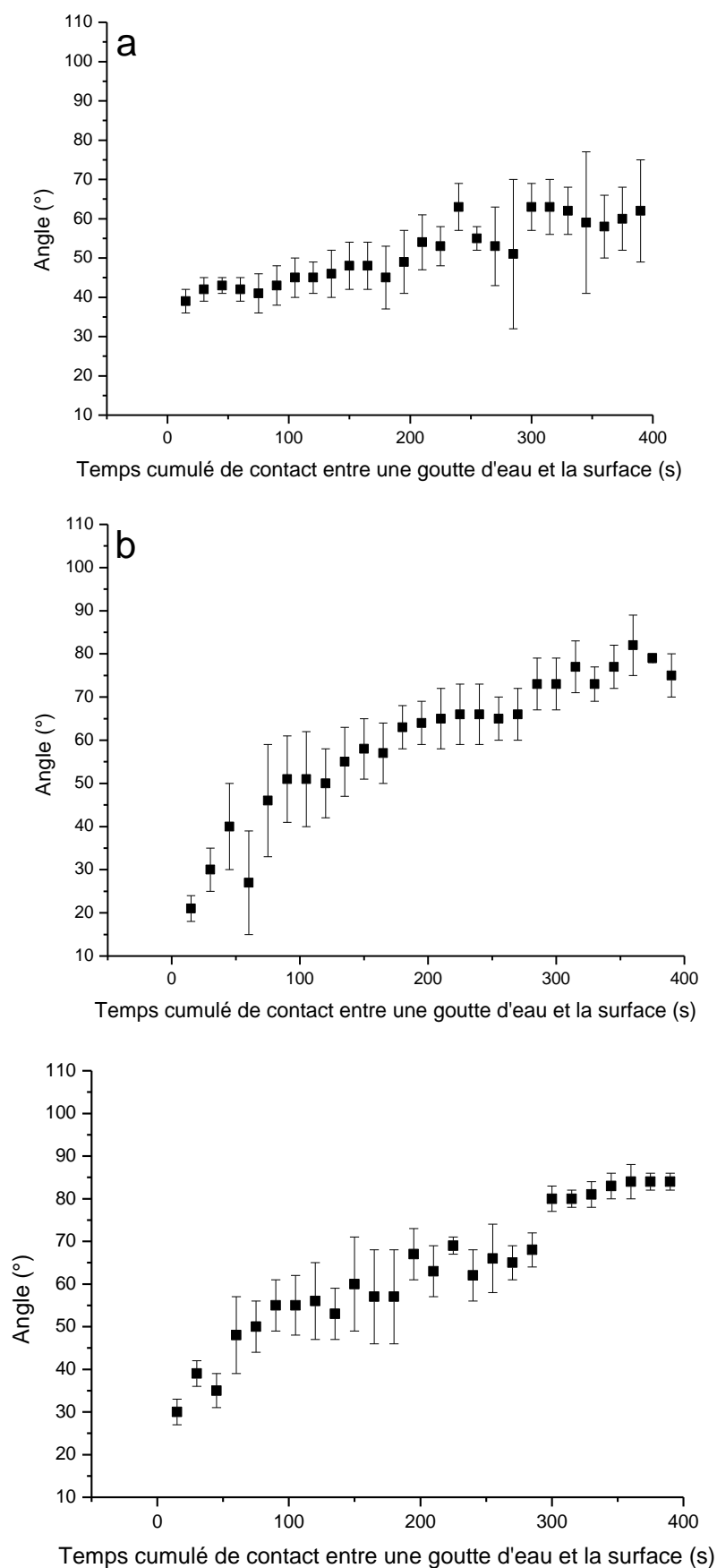


Figure 87: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 460 kGy

Ce qui avait été observé pour des doses beaucoup plus élevées par (Nishi et al., 1997). Les états de surface par MEB ne présentent pas de différence avec les surfaces vierges.

Ces conditions d'irradiation montrent comme toutes les précédentes que le matériau n'est pas modifié du point de vue cristallographique ou surfacique malgré la forte augmentation de la pénétration de la dose en profondeur du matériau qui passe de 1 μm à 20 μm (figure 14). Il est cependant intéressant de noter que les valeurs les plus hydrophiles ($19\pm 3^\circ$) sont obtenues pour ces conditions sous air, la surface de charge ayant potentiellement été plus impactée par cette profondeur d'irradiation et par une interaction d'atomes d'oxygène en surface des échantillons. Un même constat sur le temps d'irradiation très court (une seconde) peut être fait avec une chute des valeurs à une vingtaine de degrés obtenue alors qu'il faut des irradiations de plusieurs minutes dans certaines publications pour obtenir de tels résultats. Les conditions expérimentales ne nécessitant pas de contrainte de vide.

Dans une optique de réduire de moitié la profondeur d'impact de la dose d'irradiation et d'en étudier les répercussions sur les surfaces traitées, une dose d'irradiation de 640 kGy est délivrée uniformément sur 10 μm de profondeur. L'intérêt porté sur cette diminution de la zone traitée est de concentrer l'impact dans une plus petite zone afin d'en intensifier les effets.

Avec des valeurs d'angles de contact initiales inférieures à celles des échantillons vierges, les échantillons irradiés présentent une hydrophilie de surface accrue qui est plus prononcée pour les pastilles irradiées sous air (tableau 28).

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous air	Pastilles irradiées sous N₂
Valeurs d'angles de goutte initiales	38 \pm 2°	19 \pm 4°	30 \pm 4°
Valeurs d'angles plateaux	85 \pm 5°	79 \pm 3°	77 \pm 3°
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	260 s	470 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	47 \pm 5°	60 \pm 4°	47 \pm 4°

Tableau 28: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 640 kGy (tension d'accélération de 150 kV).

Avec des valeurs initiales de $19\pm 4^\circ$, ce sont les valeurs les plus faibles obtenues après un temps d'irradiation d'une seconde comme pour l'application d'une dose 460 kGy effectuée dans la partie précédente. L'évolution des courbes est également impactée à nouveau par l'augmentation de la pente durant les premières mesures. Les pastilles

irradiées atteignent les valeurs de plateaux beaucoup plus rapidement que les surfaces vierges avec un temps plus court pour des irradiations sous air.

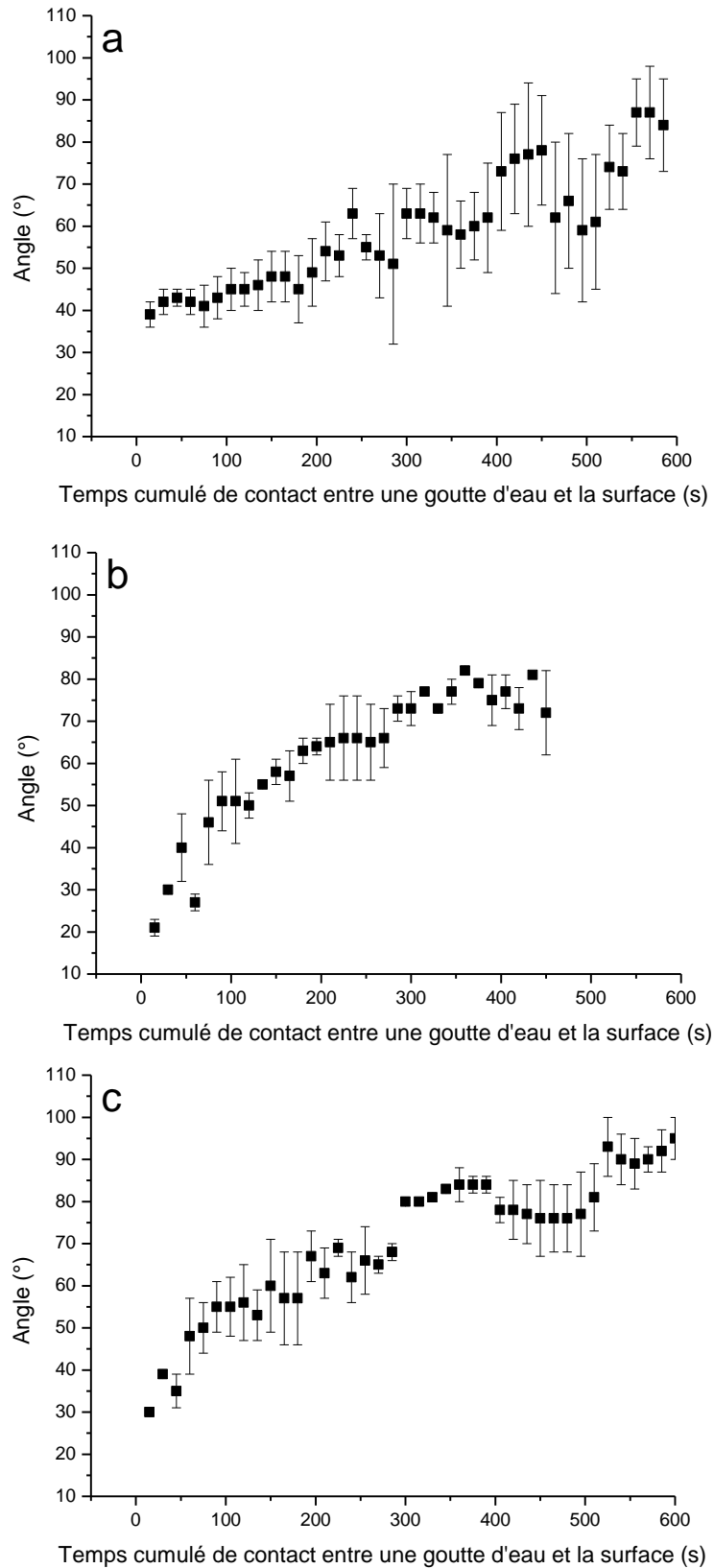


Figure 88: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 640 kGy.

L'atmosphère d'azote conduit à un temps de stabilisation plus long. L'hydrophilie plus importante des surfaces irradiées sous air nous conforte sur la possibilité des interactions des atomes de calcium en surface des pastilles d'HA avec des atomes d'oxygène contenus dans des groupements hydroxyles (Moriguchi et al., 2018). Il en résulte donc une charge de surface plus importante pour ces irradiations. Cette hydrophilie est résistante plusieurs heures à l'air libre et peut également être conservée durant quatre à cinq jours par un stockage en dessiccateur sous vide (tableau 11).

On peut arriver à une conclusion quant à l'impact d'une atmosphère contrôlée (azote) non pas sur la dose d'irradiation appliquée mais sur les électrons. Les irradiations conduites sous une atmosphère d'azote ne permettent pas une meilleure observation des effets induits par les irradiations. L'élimination des atomes d'oxygène (présents dans l'air) par l'application d'un flux d'azote n'est donc pas bénéfique dans notre cas. Une atmosphère d'azote est généralement appliquée pour minimiser les interactions entre l'atmosphère de l'expérimentation et les éléments réactifs. Il ne serait donc pas nécessaire de se placer dans des conditions atmosphériques spécifiques à de fortes doses.

3. Effets liés à l'atmosphère lors des traitements

Toutes les irradiations précédentes présentent une rugosité de surface identique à celle des surfaces vierges évaluées avec des valeurs de Ra égales à 0,10 μm . Ceci dans le but de pouvoir observer si les traitements de surfaces induisent une modification de la rugosité de surface, ce qui n'a pas été le cas. Cependant, il a été observé une modification intéressante en surface des échantillons irradiés sous air à l'aide d'analyse au MEB pour une dose d'irradiation de 640 kGy. Les images sont présentes dans la figure 89 ci-après. Les domaines de tailles que nous allons évoquer semblent être trop faibles pour permettre une détection par profilométrie.

A première vue, pour un grossissement 150 fois, il n'est pas observé de différence entre les trois types de surfaces. La présence de crevasses induite par le polissage qui a conduit à un arrachage de la surface est observable sur les trois. Toutefois, à l'aide des électrons rétrodiffusés, il est observé une différence de contraste chimique sur la surface des pastilles irradiées sous air (voir figure 89, image B2). L'irradiation de surface aurait induit dans ces conditions une modification chimique à leur surface mais également structurale. Si l'on augmente le grossissement sur une zone impactée par cette modification (figure 89, image B4), on peut noter une modification

morphologique des grains d'HA sous forme d'aiguilles (figure 89, image B6). Cette modification de surface n'est pas répartie de façon homogène, la totalité de la surface de ces échantillons ne montrant pas systématiquement ce phénomène. Ces zones modifiées par irradiations ont fait l'objet d'une analyse EDX afin de déceler une différence de composition des éléments chimiques en présence. Les images sont visibles sur la figure 90. En prenant comme référence la surface d'un échantillon vierge qui présente une répartition des éléments calcium, phosphore et oxygène homogène en surface, les pastilles irradiées sous azote ne présentent pas de différence de répartition à leur surface. En revanche, les zones qui ont subi des modifications chimiques et structurales observées au MEB comportent des différences. Il est en effet observé une présence plus faible de calcium dans ces zones mais également une augmentation de la présence de phosphore (figure 90, pastille irradiée sous air). Les valeurs de pourcentage atomique de ces éléments sont disponibles dans le tableau 29. Ceci induirait une diminution de rapport Ca/P dans ces zones modifiées conduisant à une phase d'HA non stœchiométrique ($Ca/P < 1,67$).

Ces zones pourraient ne pas avoir emmagasiné la dose d'irradiation de la même façon que tout le reste de la surface et subi une surexposition engendrant ces différences (figure 89, A4, B4 et C4). Une surexposition aux électrons dans un MEB a été étudiée par (Plecenik et al., 2011) par focalisation du faisceau à répétition sur la surface à l'aide d'un MEB, ils ont façonné des microdomaines avec des charges de surfaces opposées. Les conditions de vide du MEB offrent une enceinte non réactive avec l'absence d'éléments environnants. La présence d'air durant nos expériences a peut-être permis une réaction avec un de ces éléments qui a conduit à ces modifications.

Dans l'optique d'observer une différence pour ce cas de figure précis, la DRX a été réalisé d'une manière différente à tout ce qui a été fait précédemment. Il s'agit d'une diffraction en volume constant (chap Chapitre II:C.3, p44). Le diffractogramme d'une pastille irradiée sous air dont les modifications chimiques et structurales ont été observées par MEB et EDX précédemment est comparé à celui d'une pastille vierge.

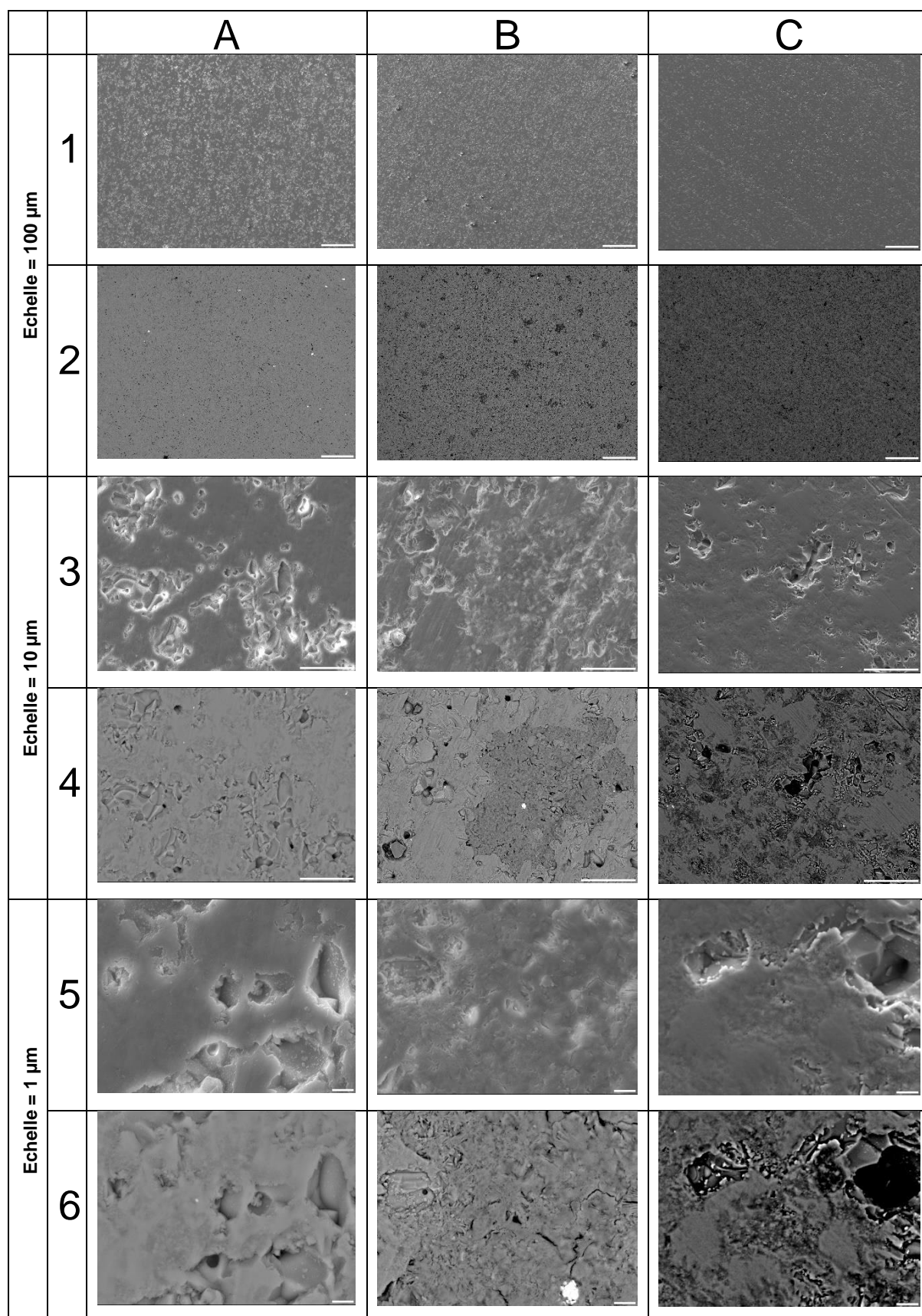


Figure 89: Images MEB de pastilles vierges (A), irradiées sous air (B) et irradiées sous azote (C). Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.

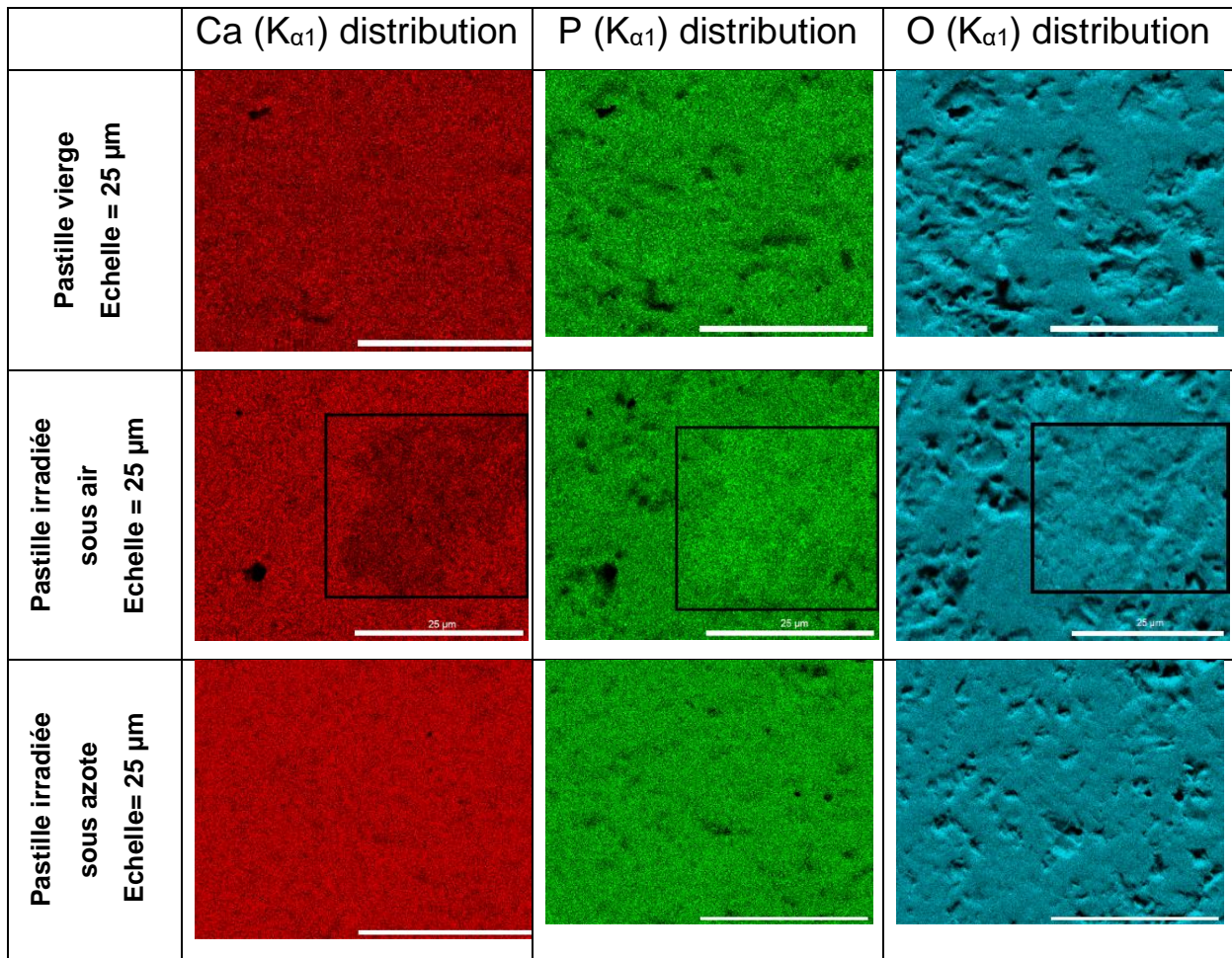


Figure 90: Images EDX d'une pastille vierge, d'une zone de modification chimique et structurale (figure 89, image B3 et B4) d'une pastille irradiée sous air et d'une pastille irradiée sous azote.

	Zone non modifiée	Zone modifiée
Ca (%at)	21	19
P (%at)	13	14

Tableau 29: Pourcentage atomique des éléments calcium et phosphore obtenu par EDX sur une surface irradiée sous air. Comparaison entre les zones modifiées et non modifiées chimiquement et structurellement.

La fine couche de métallisation au chrome nécessaire pour le MEB ne doit pas poser de problème lors des analyses car la focalisation du faisceau peut être ajustée. Néanmoins, pour en être certain, l'échantillon vierge a également été métallisé. Ces diffractogrammes sont présentés sur la figure 91. Les modifications chimiques perçues en EDX n'ont pas pu être observées en DRX, en témoigne la non-apparition de nouveaux pics de diffractions pour l'échantillon irradié. Le même constat peut être fait pour la modification structurale observée par microscopie qui n'a pas engendrer de tels changements.

La diffraction en volume constant ne permet donc pas de détecter des différences entre une surface vierge et une surface irradiée. Ces zones modifiées sont de tailles microscopiques et ne sont pas réparties de façon homogène sur la totalité de la surface. Il est donc possible qu'elles ne soient pas perçues en DRX. Il est également possible que ces modifications ne soient pas assez importantes pour être révélées à l'aide de cette méthode. Leurs prémices peuvent être cachés dans le bruit de fond ou bien à la base d'un pic de diffraction du diffractogramme.

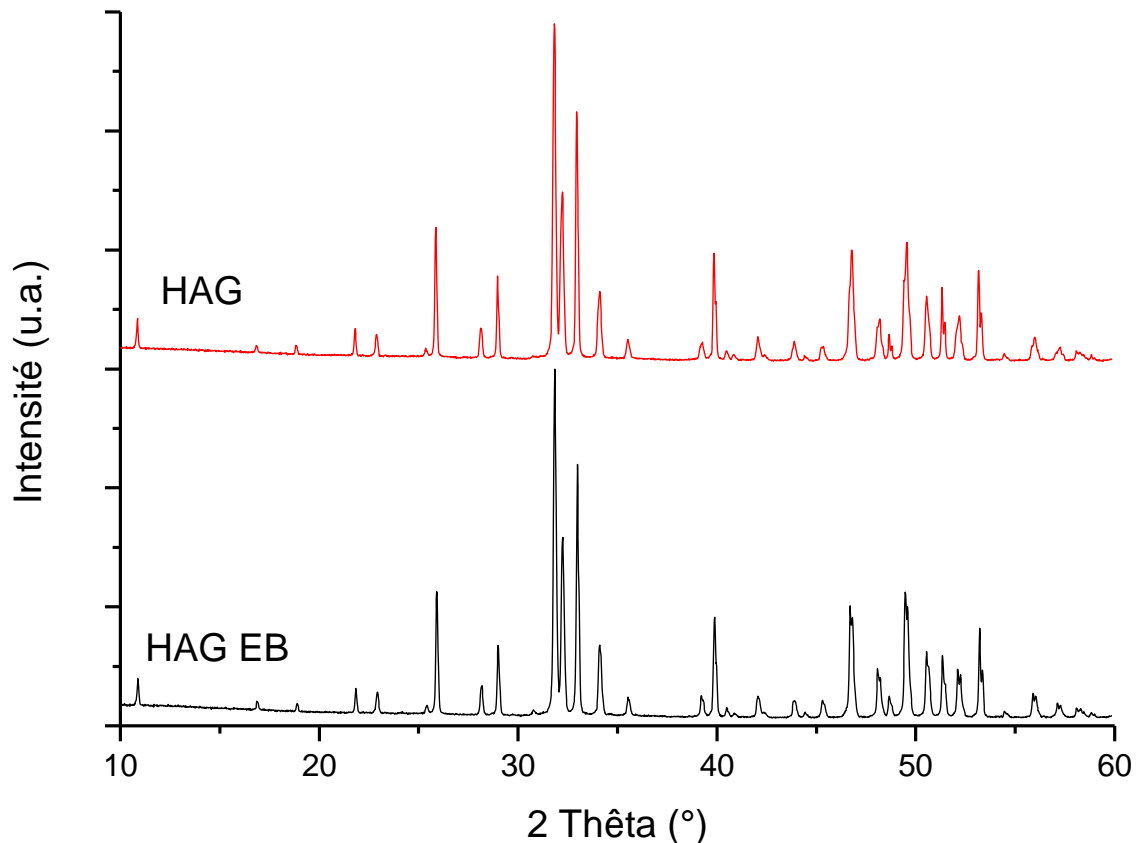


Figure 91: Diffractogrammes en volume de deux pastilles HAG métallisées au Cr. HAG est une pastille de référence vierge et HAG EB une pastille irradiée sous air dont la modification chimique et structurale a été observée par MEB/EDX.

En ce qui concerne les analyses des surfaces par Tof-SIMS, il n'est pas non plus observé de changements majeurs avec l'état vierge. Les pics caractéristiques de la phase d'HA sont à nouveau sous-estimés après irradiation, à savoir les pics Ca^+ et CaOH^+ pour les spectres positifs et O^- , OH^- en plus des pics PO_2^- et PO_3^- déjà sous-estimés pour les surfaces vierges. Ils indiquent une diminution de la pollution de surface. Les surfaces irradiées sous air présentent néanmoins une forte diminution du pic de pollution du sodium à 23 uma.

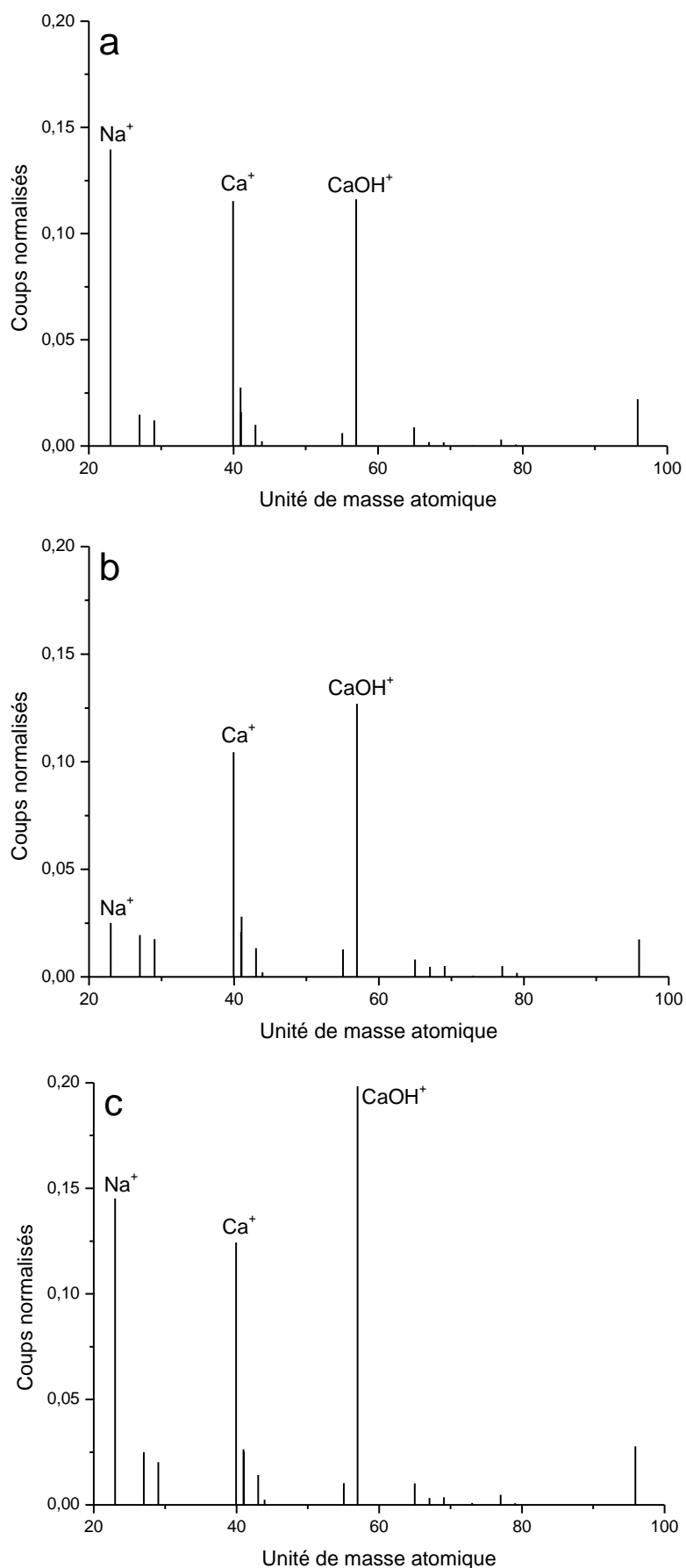


Figure 92: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG vierge (a), HAG irradié sous air (b) et de HAG irradié sous N_2 (c).

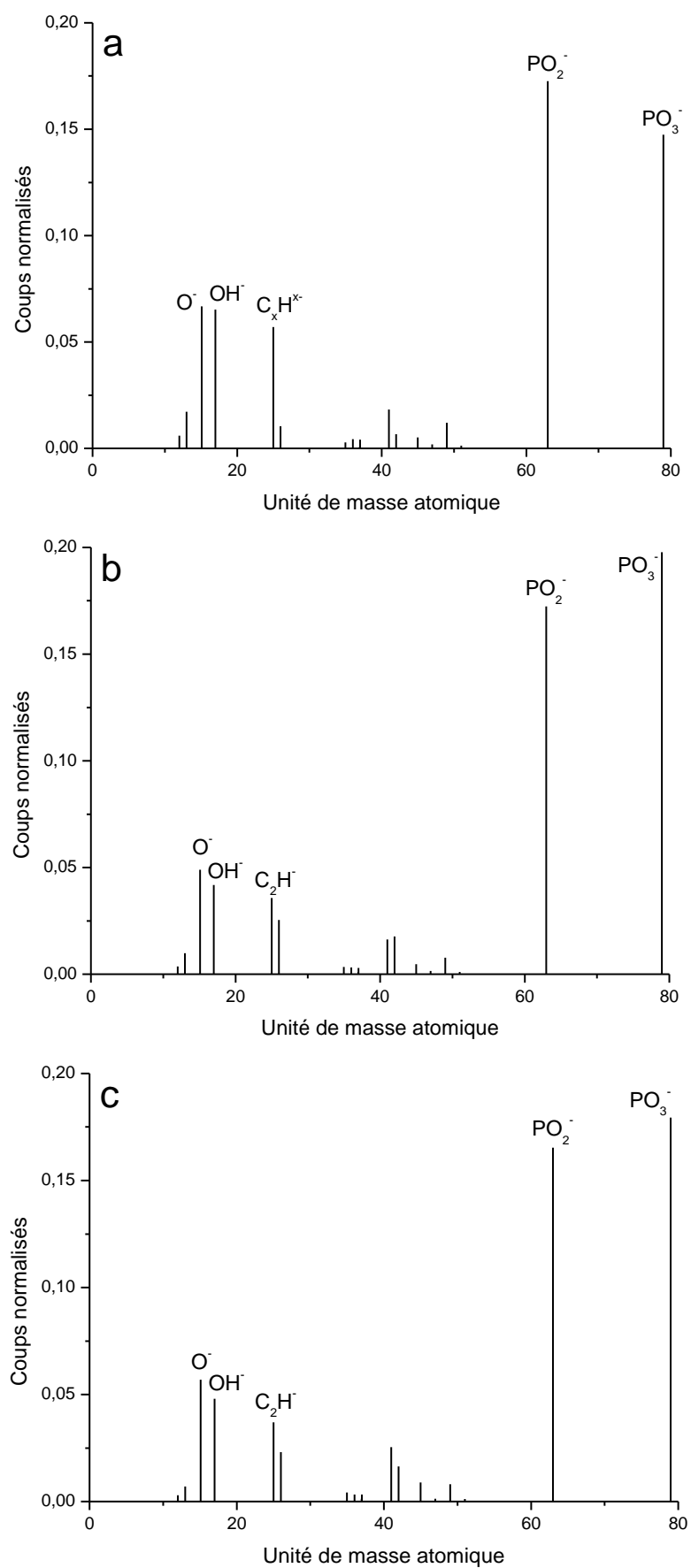


Figure 93: Spectres ToF-SIMS négatifs de HAG vierge (a), HAG irradié sous air (b) et de HAG irradié sous N_2 (c).

Si l'on s'intéresse maintenant à l'étude XPS menée pour cette dose d'irradiation (640 kGy), les spectres d'intérêts sont donnés dans la figure 94.

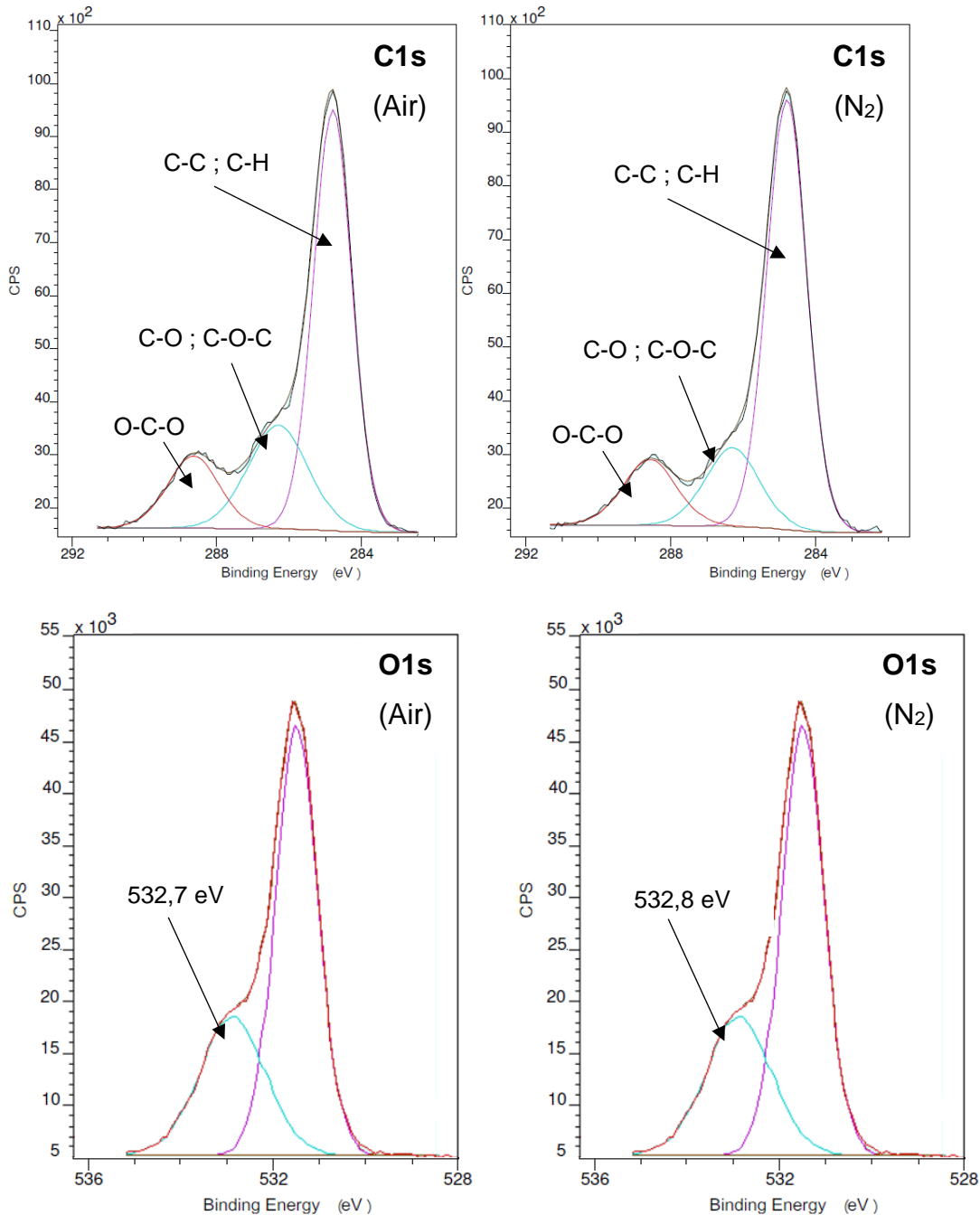


Figure 94: Pics XPS C1s et O1s décomposés des surfaces irradiées sous air (gauche) et sous azote (droite) à une dose de 640 kGy.

Trois différences distinctes sont notables avec l'état vierge. La première concerne le pic C1s où il est noté la disparition de la pollution de surface liée à la présence d'ions carbonates à 289,5 eV après irradiation. Le pic C1s ne se décompose plus qu'en trois pics (au lieu de quatre). Les contributions liées à la contamination de surface sont à hauteur de 61,6 % pour les liaisons C-H, 24 % pour les liaisons C-O ou C-O-C et 14,5

% pour les liaisons O-C-O dans le cas d'une irradiation sous air (respectivement 68,6 %, 17,2 % et 14,2 % pour une irradiation sous N₂). La seconde est la possibilité de décomposer le pic de l'oxygène en deux pics distincts (au lieu d'un seul pic). Ces deux phénomènes sont visibles pour les irradiations conduites sous air comme sous une atmosphère d'azote et comportent un point commun : l'implication de groupements CO₃²⁻.

Si le pic O1s à 531,2 eV représente les liaisons P-O et O-H des groupements PO₄³⁻ et OH⁻ de l'HA visibles sur tous les spectres (surfaces vierges ou traitées), le pic à 532,7 eV pour une irradiation sous air (ou 532,8 eV pour une irradiation sous azote) est attribuable à des liaisons C-O du carbonate de calcium CaCO₃. Il est en lien direct avec le pic à 286,3 eV de C1s (Yamaguchi et al., 2006) qui correspond également à une énergie de liaison C-O. La présence de CaCO₃ en surface est due à ses interactions avec le dioxyde de carbone (CO₂) et à l'eau (H₂O) contenus dans l'air. Les irradiations sous azote ont également le même constat. Cette pollution de surface se fait systématiquement lorsque cette dernière est mise en contact avec l'air ambiant même très brièvement. Cette pollution inévitable a donc lieu lors de la sortie de la machine et lors du transport jusqu'aux techniques d'analyses. Il est donc possible que le pic de pollution du carbone à 286,3 eV soit révélateur de la présence de CaCO₃ en surface de tous les échantillons analysés par XPS et que le pic de l'oxygène à 532,7 eV soit confondu par manque d'intensité avec la base du pic O1s des liaisons P-O et O-H de l'HA. L'irradiation de surface par bombardement électronique a augmenté la réactivité de la surface avec la pollution ambiante, ce qui malheureusement augmente la formation de pollution de type CaCO₃ en surface. Une conséquence est donc une pollution de la surface plus importante et décelable par la présence du pic O1s à 532,7 eV. On peut supposer que la disparition du pic à 289,5 eV des groupements CO₃²⁻ nous informe de la participation de ces groupements dans la pollution en CaCO₃.

Il se pourrait alors que cette pollution soit liée aux « zones modifiées » observées par MEB/EDX. Cette hypothèse peut être écartée car ces zones n'ont pas été observées en surface des échantillons irradiés sous N₂ bien qu'ils comportent les pics de pollution de CaCO₃ en XPS.

La troisième et dernière différence se situe sur le pic N1s qui indique des liaisons avec trois éléments différents (figure 95). La pollution de surface avec les hydrocarbures est toujours existante à une énergie de liaison de 400 eV. Cependant, deux autres contributions sont relevées pour des énergies de liaison de 403,7 et 407,3 eV. Si l'on

se réfère à la littérature, elles correspondent respectivement à des liaisons N-O de groupements nitrite NO_2^- et nitrate NO_3^- (Moulder et al., 1992). Le pic O1s ne présente aucune contribution des atomes d'oxygène dans des liaisons N-O, la formation de Nitrite de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$ ou de nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ est donc une piste à écarter. Leur présence est donc confondue avec le pic de pollution du carbone à 284,8 eV. Il est cependant à noter que le pourcentage du pic N1s reste extrêmement faible par rapport aux autres avec une contribution à hauteur de 2,9% (tableau 31), ce qui représente un très faible pourcentage de la composition de la surface.

	Élément	C1s			O1s		N1s		
Irradiation sous air	Energie de liaison (eV)	284,8	286,3	288,6	531	532,7	399,9	403,7	407,3
	% atomique	61,6	24	14,5	66,8	33,2	20,8	14	65,2
Irradiation sous azote	Energie de liaison (eV)	284,8	286,3	288,6	531,1	532,8	400	403,7	407,3
	% atomique	68,6	17,2	14,2	66,8	33,2	15	12,3	72,7

Tableau 30: Positions des pics décomposés de O1s, C1s et N1s ainsi que leur composition en pourcentage atomique pour une surface irradiée sous air et une surface irradiée sous azote à une dose de 640 kGy.

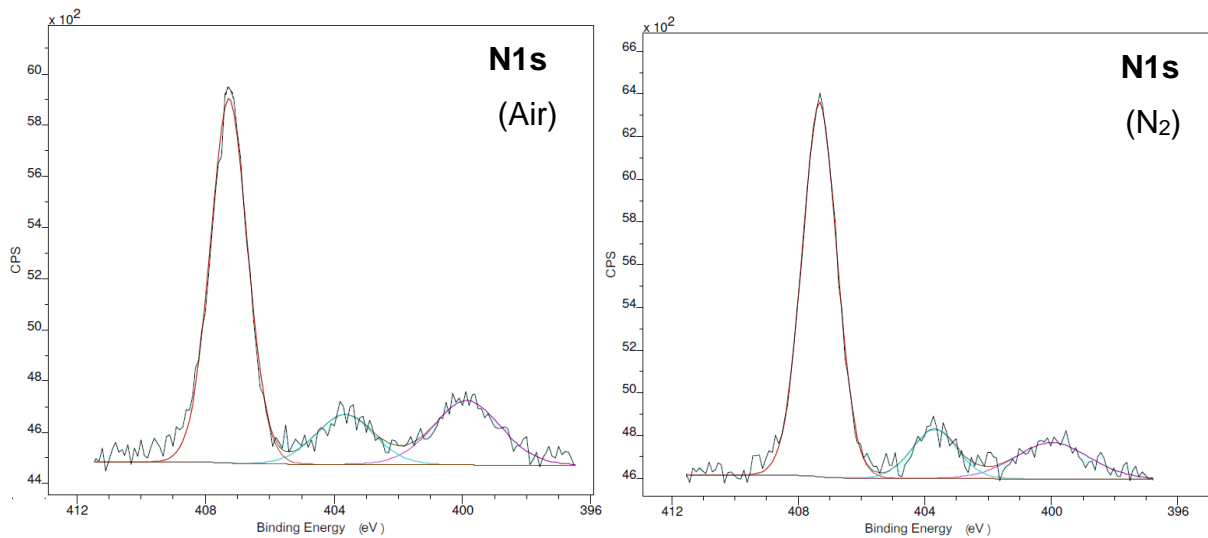


Figure 95: Pics XPS N1s décomposés des surfaces irradiées sous air (gauche) et sous azote (droite) à une dose de 640 kGy.

	Élément	O1s	C1s	Ca2p	P2p	N1s
Irradiation sous air	Energie de liaison (eV)	531,2	284,8	347,2	133,1	407,3
	% atomique	49,6	24,2	14	9,3	2,9
Irradiation sous azote	Energie de liaison (eV)	531,1	284,8	347,3	133,1	407,3
	% atomique	51,7	21,8	14,2	9,4	2,9

Tableau 31: Pourcentages atomiques et énergies de liaisons obtenus par XPS pour les éléments O1s, C1s, Ca2p, P2p et N1s pour une surface irradiée sous air et une surface irradiée sous azote à une dose de 640 kGy.

Dans ces conditions d'irradiation qui impliquent une pénétration uniforme de la dose de 10 μm , les surfaces les plus hydrophiles ($19\pm 2^\circ$) sont assimilées aux irradiations sous air. Le constat d'un faible temps d'irradiation d'une seconde sans contrainte de vide pour les expériences est à nouveau vérifié. Toutefois, les irradiations sous air montrent une modification chimique et structurale dans certaines zones en surface des pastilles par analyses au MEB et en EDX. La rugosité par profilométrie ainsi que la DRX n'ont pas décelé de différences majeures. Une influence de liaisons avec des atomes d'oxygène a pu être observée par XPS. Cependant, elle n'est pas attribuable à ces zones car elle est aussi obtenue pour les irradiations sous azote.

En ce qui concerne les faibles doses sous azote, comme pour toutes les autres doses, la diffraction des rayons X ne montre pas de différences de cristallinité ou de phase avec les pastilles non traitées (figure 96). Nous sommes dans des gammes de doses très faibles comparées à celles de (Nishi et al., 1997) de 1000 kGy. Même constatation pour la rugosité de surface avec des valeurs de Ra égales à 0,10 μm .

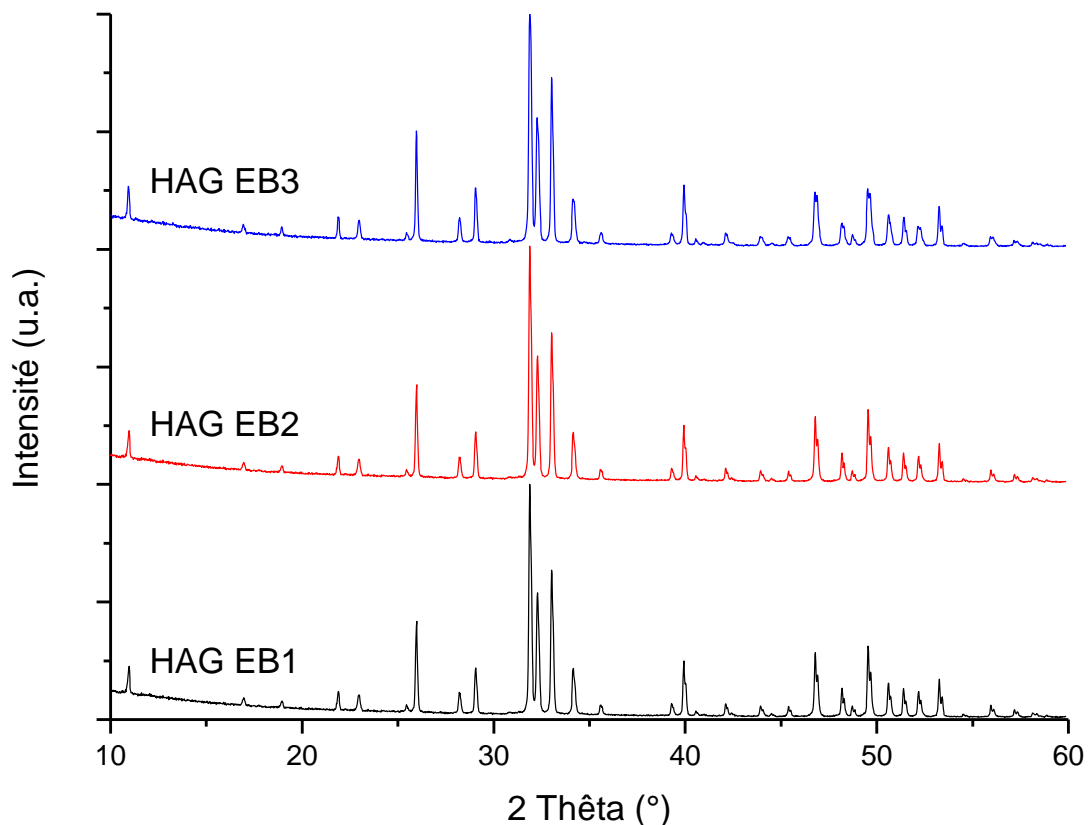


Figure 96: Diffractogrammes de 3 pastilles irradiées sous azote. HAG EB1 à une dose de 110 kGy, HAG EB2 à une dose de 185 kGy et HAG EB3 à une dose de 260 kGy.

Les mêmes grossissements que lors de l'étude des zones modifiées pour une dose de 640 kGy sont présentés dans la figure 97 pour chaque irradiation électronique. Il

n'est pas observé de différences entre les trois types de surfaces et ceux vierges. Aucun espace à un grossissement x150 n'a permis d'observer un regroupement de zones modifiées. Ce qui semble logique vu que celles-ci ont été observées après irradiation sous air. Pour une dose d'irradiation de 185 kGy sous azote, il a été observé des « tâches » similaires aux « zones modifiées » évoquées précédemment (dose de 640 kGy sous air) mais à un seul endroit de la surface. Ce qui n'est pas représentatif de cette dernière dans sa globalité. Comme on peut le voir sur la figure 98, les tâches observées ont une taille d'environ 10 μm et sont donc plus petites (20 μm pour les « zones modifiées »). Le contraste chimique est également beaucoup plus marqué et aucune modification de morphologie en aiguilles n'est observée. Ce contraste chimique nous indique donc la présence d'un élément plus lourd en surface de l'échantillon. Il s'agirait d'une pollution de la surface qui s'est produite après la métallisation et avant les analyses de microscopies. Ces tâches ne résultent donc pas de l'irradiation de surface et ne sont pas à prendre en compte.

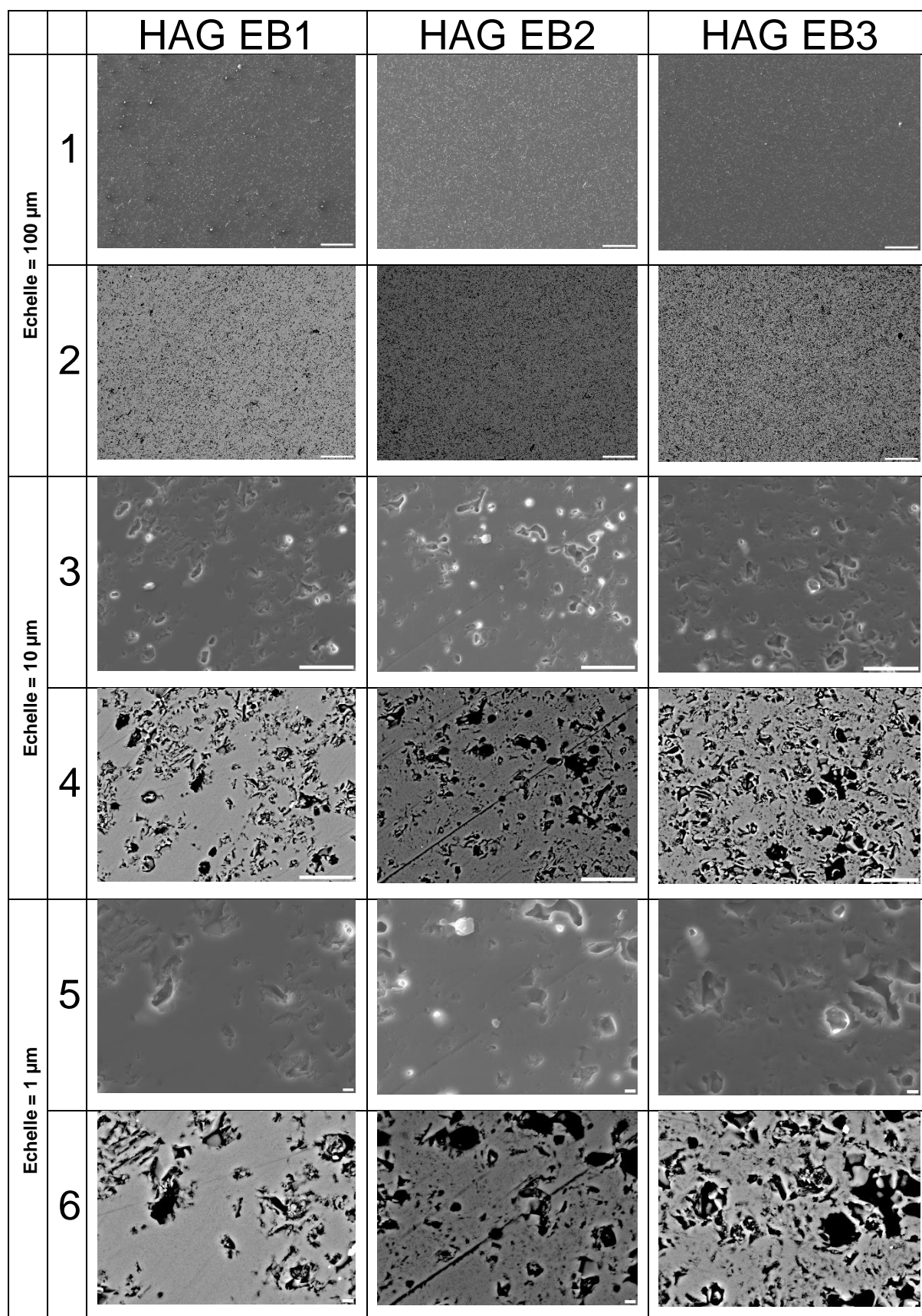


Figure 97: Images MEB de pastilles irradiées sous azote à une dose de 110 kGy (HAG EB1), 185 kGy (HAG EB2) et 260 kGy (HAG EB3). Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.

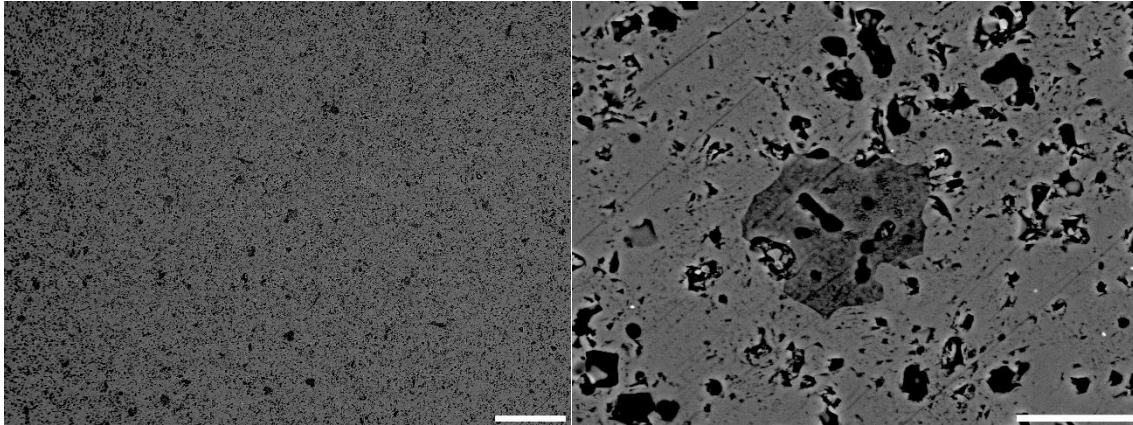


Figure 98: Images MEB en électrons rétrodiffusés d'une surface irradiée à une dose de 185 kGy sous azote (échelle de 100 μm à gauche et 10 μm à droite).

Comme vu précédemment, une atmosphère de traitement contrôlée (azote) n'aurait pas d'impact sur les traitements à fortes doses. Il a donc été intéressant d'étudier la possibilité d'un impact d'une atmosphère contrôlée avec des doses d'irradiations faibles. Pour ce faire, c'est l'intensité de la machine qui sera le paramètre variant, induisant une formation plus ou moins importante d'électrons. Ces doses d'irradiations sont présentées dans le tableau 32.

Dose (kGy)	Voltage (kV)	Intensité (mA)	Pénétration uniforme (μm)
110	180	3	60
185	180	5	20
260	180	7	20

Tableau 32: Paramètres des traitements de surface électronique uniquement sous azote à faible dose.

L'effet des irradiations à faibles doses sous air n'a pas donné de résultats concluant comme traité précédemment (voir figure 84 et tableau 23) . L'idée est donc de procéder à l'étude de l'utilisation de ce gaz inerte comme atmosphère de travail afin de conclure si ces paramètres peuvent être pertinents.

Pour une dose de 110 kGy, l'irradiation électronique sous azote ne semble pas améliorer l'hydrophilie des surfaces traitées avec des valeurs d'angles de goutte initiales trop proches (tableau 33). Toutefois, elle a eu un impact sur le long terme avec une stabilisation aux valeurs plateaux plus rapide que les pastilles vierges (figure 99).

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous N₂
Valeurs d'angles de goutte initiales	38±2°	36±1°
Valeurs d'angles plateaux	85±5°	81±2°
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	405 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	47±5°	45±2°

Tableau 33: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 110 kGy (tension d'accélération de 180 kV).

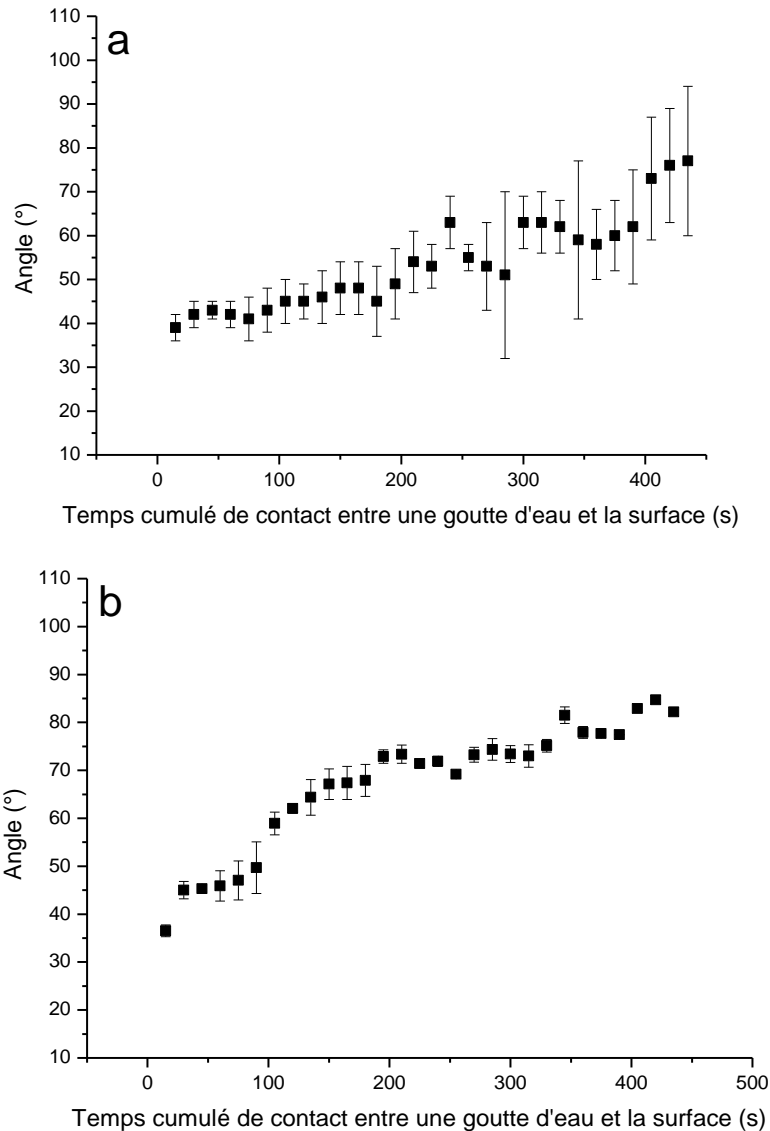


Figure 99: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a) et irradiées sous atmosphère d'azote (b) à une dose de 110 kGy.

Pour une dose de 185 kGy, la profondeur de zone irradiée est plus faible, ce qui montre une modification plus marquée. Cette fois ci, une légère augmentation de l'hydrophilie des surfaces traitées a pu être observée avec des valeurs d'angle de contact initiales de 27±2° après irradiation (tableau 34). Le critère qui va être intéressant pour ces

expérimentations est l'augmentation de la pente durant les premières mesures de valeurs d'angles de goutte. Elle est la plus marquée parmi toutes les expériences qui ont pu être faites (figure 100). Elle dure deux fois plus longtemps, indiquant que la charge de surface est beaucoup plus rapidement évacuée par les contacts à répétition avec l'eau. Néanmoins, la stabilisation aux valeurs plateaux est fortement ralentie par la suite, ce qui mène à des temps d'arrivée dans des valeurs identiques aux cas précédents. Ce qui n'apporte pas une stabilisation plus rapide pour ces irradiations.

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous N₂
Valeurs d'angles de goutte initiales	38±2°	27±2°
Valeurs d'angles plateaux	85±5°	79±2°
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	400 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	47±5°	52±2°

Tableau 34: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 185 kGy (tension d'accélération de 180 kV).

Quant à un traitement à une dose de 260 kGy, l'irradiation ne semble pas avoir augmenté le caractère hydrophile de la surface, les valeurs d'angles de goutte initiales étant trop proches de celles des surfaces vierges (tableau 35). L'impact sur le long terme est également retrouvé avec une stabilisation aux valeurs plateaux plus rapide que les pastilles vierges (figure 101).

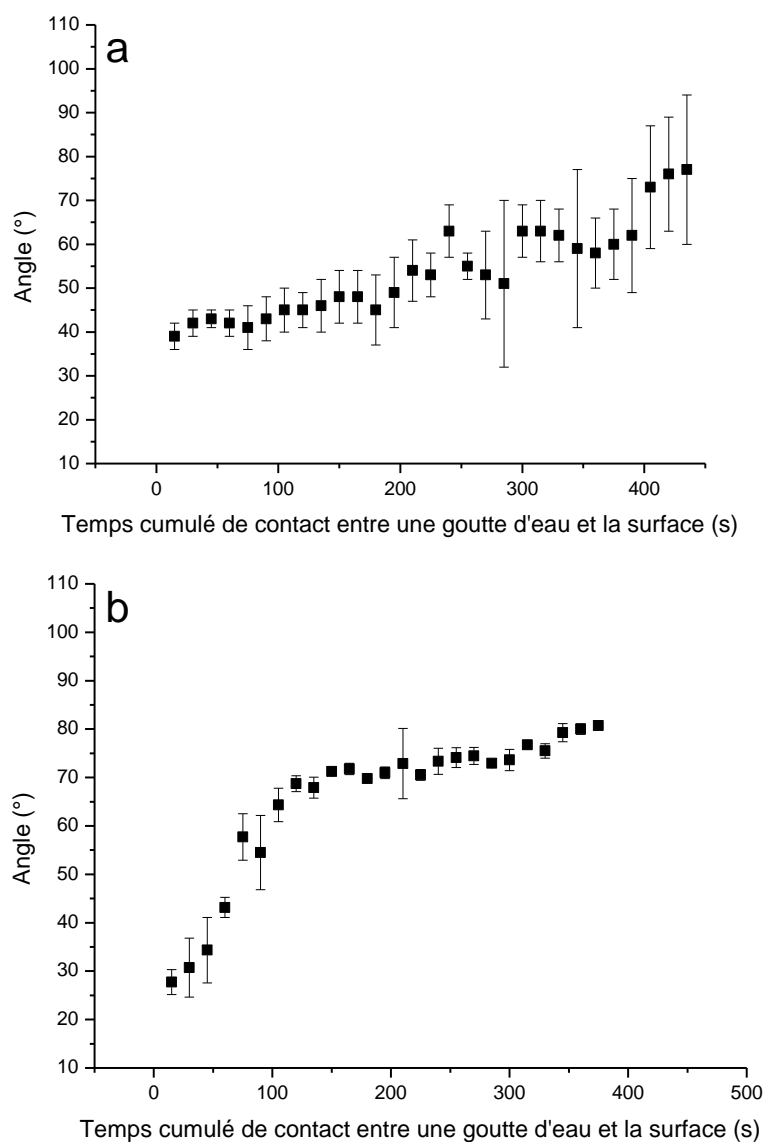


Figure 100: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a) et irradiées sous atmosphère d'azote (b) à une dose de 185 kGy.

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées sous N₂
Valeurs d'angles de goutte initiales	38±2°	35±2°
Valeurs d'angles plateaux	85±5°	79±2°
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	420s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	47±5°	44±2°

Tableau 35: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 260 kGy (tension d'accélération de 180 kV).

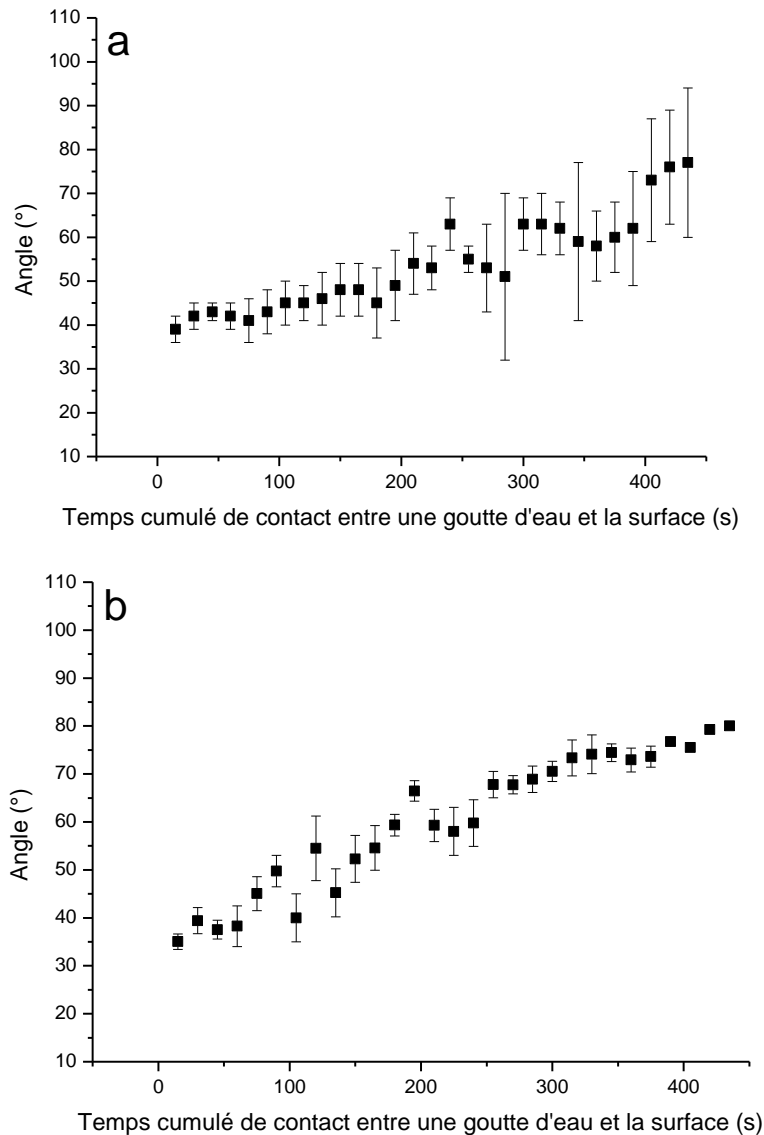


Figure 101: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a) et irradiées sous atmosphère d'azote (b) à une dose de 260 kGy.

Il y a donc une piste à étudier dans cette gamme de dose faible pour des traitements sous atmosphère contrôlée

B. B Traitements impliquant rayonnement UV et plasma froid

Il sera ici question des résultats en relation avec les traitements UV et Plasma. Une étude impliquant la combinaison d'un traitement UV et électronique sera également discutée.

1. Irradiation UV

Comme pour les irradiations électroniques, les expérimentations ont tout d'abord commencé sur les anciennes pastilles Ech dont l'historique est inconnu. Pour aboutir à une augmentation de la dose dans le cas de la machine UV, plusieurs passages sous la source sont réalisés. Son influence a alors été étudiée.

a) Influence du protocole de préparation des surfaces

La répétabilité des mesures sur des pastilles stockées en étuve (figure 53) comportait une bonne stabilisation à des valeurs plateaux mais une grande disparité des valeurs d'angles de contact initiales comprises entre 60° et 90°. Après une irradiation UV correspondant à une dose de 1 380 kJ/cm², une hydrophilie accrue de la surface est observée par diminution des valeurs d'angles de contact initiales (figure 102).

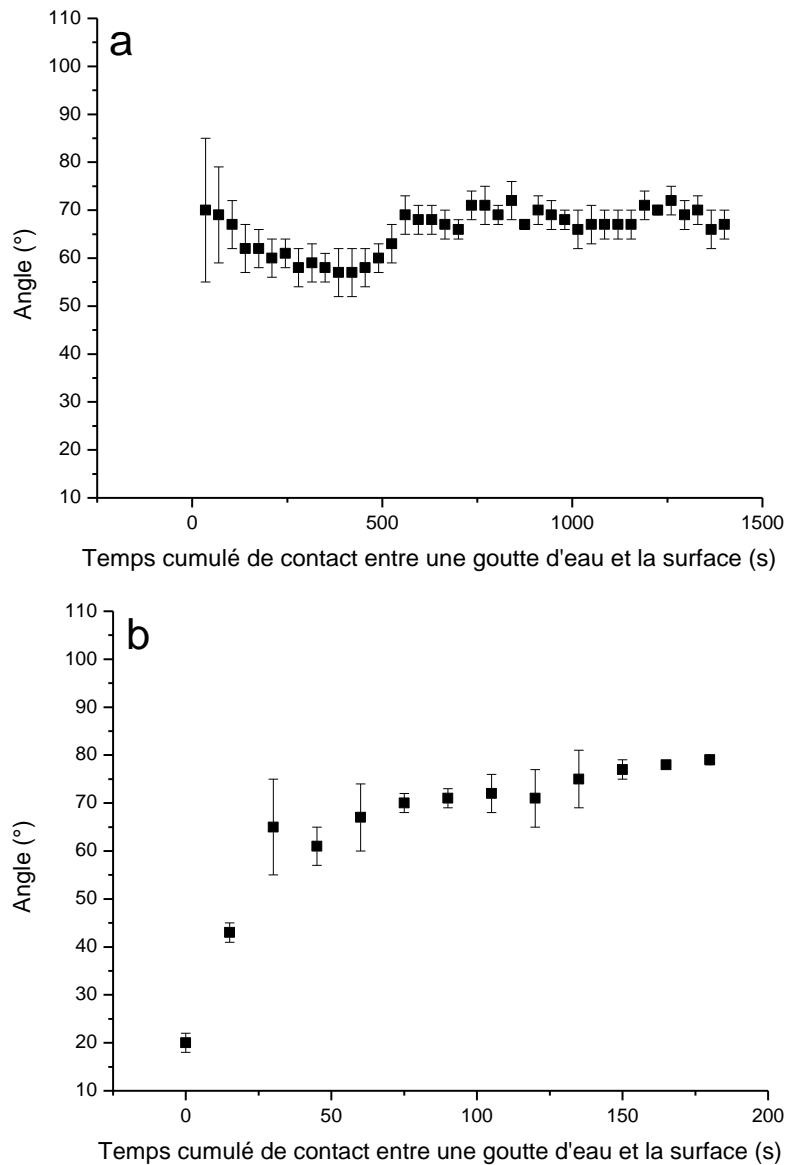


Figure 102: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges stockées en étuve (a) et irradié UV (b).

Des valeurs d'angles initiales de $20 \pm 4^\circ$ après irradiation UV conduisent à une inversion de l'allure des évolutions. La stabilisation à des valeurs plateaux se fait dans une gamme de valeurs proche mais il y a une différence dans le nombre de mesures d'angles de goutte nécessaires pour y parvenir et donc de temps plus ou moins long. Les pastilles irradiées par UV atteignent les valeurs (tableau 36) plus rapidement que

les pastilles vierges qui mettent plus de temps à se stabiliser. Cela reste quand même relativement faible puisque l'on parle d'une différence de 3 mesures (16 pour les pastilles vierges et 13 pour les pastilles irradiées). Une forte hydrophilie de surface est observée traduisant une forte énergie de surface (de Gennes, 1985). Le retour à un état de surface stable par les multiples mesures d'angles est rapidement obtenu comme le témoignent les trois premières mesures après irradiation. (Yasuda et al., 2017) observent un même phénomène d'hydrophilie pour leur surface très hydrophobe après un temps d'une minute. L'angle de contact mesuré passe de 115° à 80° . Une valeur limite de surface superhydrophile est atteinte après 5 minutes d'irradiation (10°). Il est à noter que dans leur étude, l'effet d'une irradiation UV est combiné à un nettoyage de surface par une solution d'acide phosphorique qui donne le caractère hydrophobe initial des surfaces. Le point mis en avant est la capacité de décontamination avec la participation de l'oxygène de l'air. Il est formé des radicaux O^* dont une partie va réagir avec O_2 pour former de l'ozone O_3 (Yasuda et al., 2017). Ces espèces vont interagir avec la surface et induire sa décontamination. Une formation de radicaux et donc d'ozone est très probable dans notre cas de figure puisque l'atmosphère dans l'enceinte du dispositif n'est pas contrôlée. La forte puissance pendant le cours instant d'irradiation conduit à la formation de ces espèces qui vont interagir avec la surface, provoquant la chute des mesures d'angles de contact par décontamination de surface.

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées UV
Valeurs d'angles de goutte initiales	$75 \pm 15^\circ$	$20 \pm 4^\circ$
Valeurs d'angles plateaux	$70 \pm 3^\circ$	$75 \pm 4^\circ$
Temps pour atteindre la valeur plateau	560 s	260 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	$5 \pm 12^\circ$	$55 \pm 4^\circ$

Tableau 36: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs.

Les diffractogrammes d'une surface vierge et d'une surface traitée en UV sont visibles sur la figure 103. Aucune modification de cristallinité ou de changement de phase n'est observée.

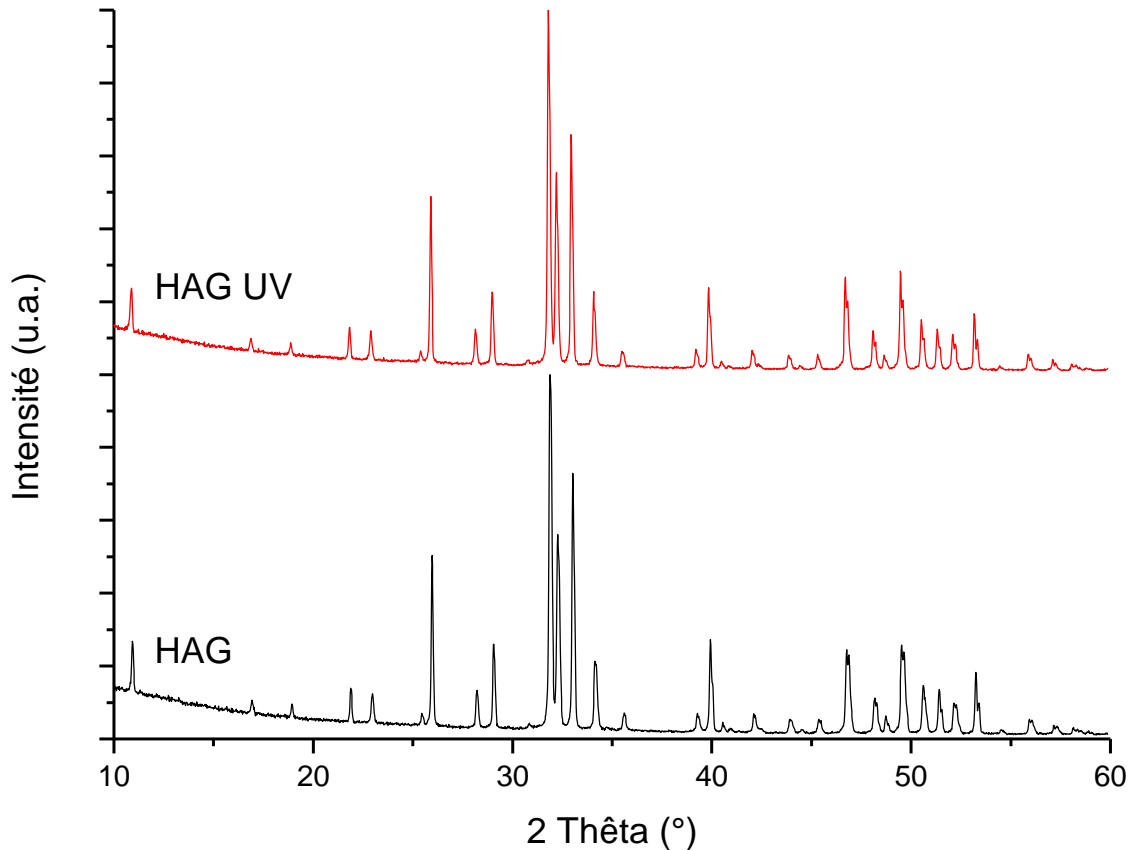


Figure 103: Diffractogrammes de deux pastilles. HAG est une pastille de référence vierge et HAG UV une pastille irradiée sous UV (1 passage à 100% soit 1 380 kJ/cm²).

Après l'optimisation du protocole de stockage en dessiccateur et afin d'obtenir une meilleure reproductibilité entre les échantillons, les irradiations UV ont été conduites sur ces nouveaux états de surface. Les évolutions des mesures d'angles de contact en fonction du temps sont visibles sur la figure 104. Après un passage sous la source UV pour une dose délivrée de 1380 kJ/cm², la surface des pastilles ne présente plus une hydrophilie de surface accrue. Il n'est plus observé une valeur d'angle de contact initiale inférieure à celles des pastilles vierges. Il est possible que le nouveau protocole de préparation et de stockage des échantillons compense l'impact de l'irradiation UV. Les mesures continues d'angles dans le temps ne présentent pas non plus de variations marquées avec celles des surfaces vierges. Des temps de séjours jusqu'à une heure sous une source UV montrent une augmentation de la population d'espèces actives (Nishikawa and Omamiuda, 2002). La décision d'augmenter la dose d'irradiation a été prise en réalisant plusieurs passages des surfaces sous la source UV.

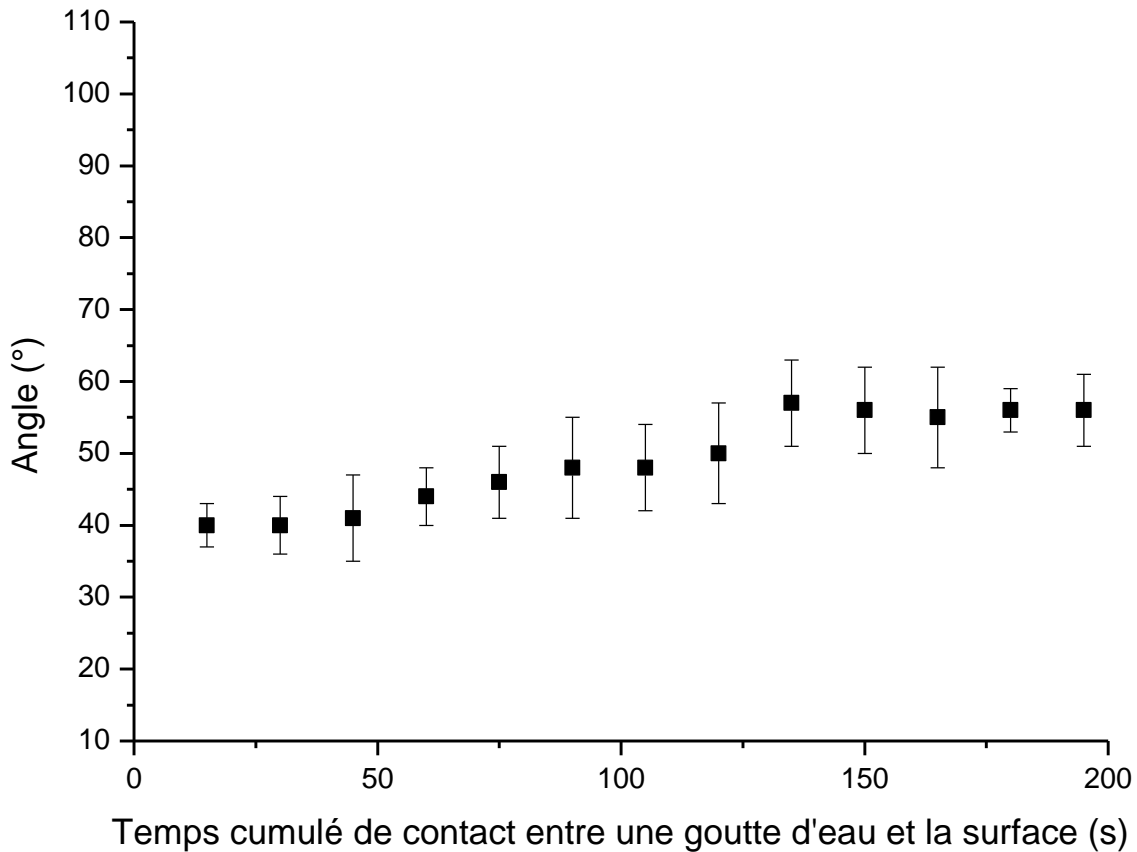


Figure 104: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), ayant subi 1 passage (1 380 kJ/cm²).

b) Effets de dose

La dose d'irradiation a été augmentée pour tenter d'observer un effet du traitement sur les surfaces. Le nombre de passages maximal a été de 4 (voir tableau 37) afin de ne pas avoir un temps d'irradiation trop long. Les valeurs initiales d'angles de contact sont présentées dans le tableau 38.

Dose (kJ/cm ²)	nombre de passage sous la source UV	Temps d'irradiation (s)
1380	1	1
2760	2	3
5520	4	5

Tableau 37: Nombres de passages sous la source UV et dose associée.

	Pastilles vierges	Pastilles irradiées UV 1 passage	Pastilles irradiées UV 2 passages	Pastilles irradiées UV 4 passages
Valeurs d'angles de goutte initiales	38±2°	42±3°	42±5°	46±2°

Tableau 38: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales pour les différentes irradiations UV réalisées.

Malgré des expériences sur deux puis quatre passages sous la source UV qui correspondent à un temps d'irradiation de 5 secondes, des résultats similaires sont obtenus (voir figure 105 et figure 106)

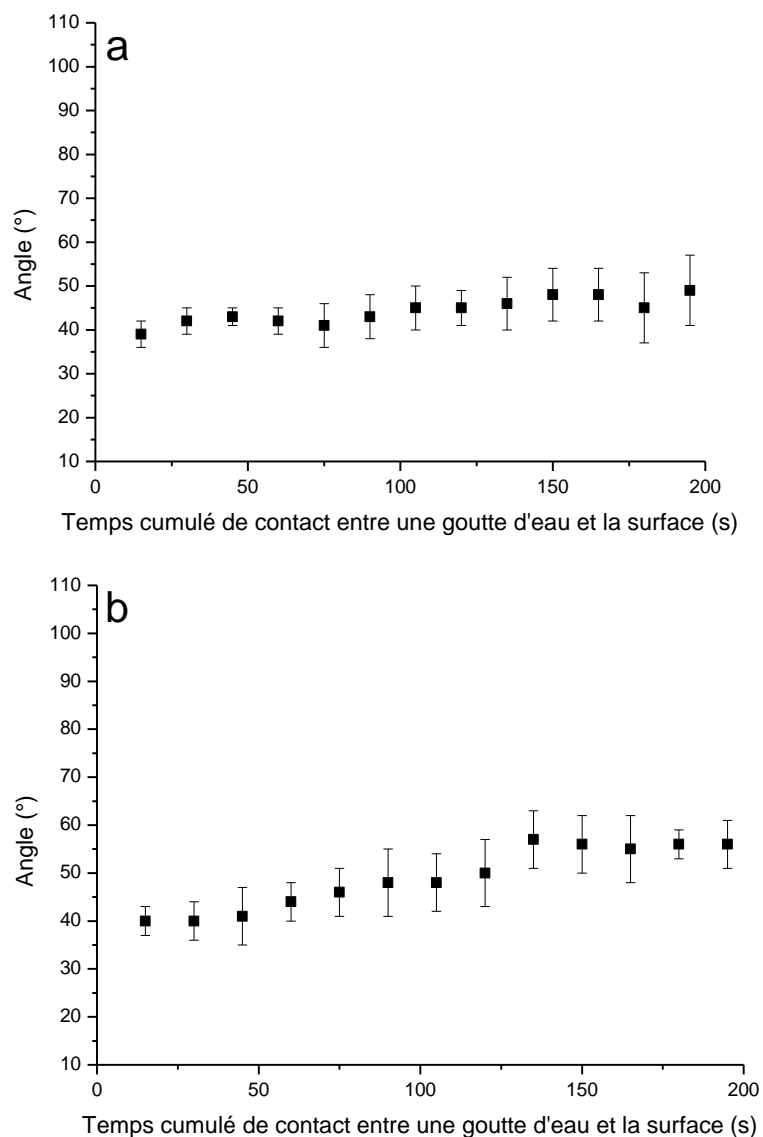


Figure 105: Evolution des angles de contact pour des pastilles vierges (a) et ayant subi 1 passage (1 380 kJ/cm²) (b),

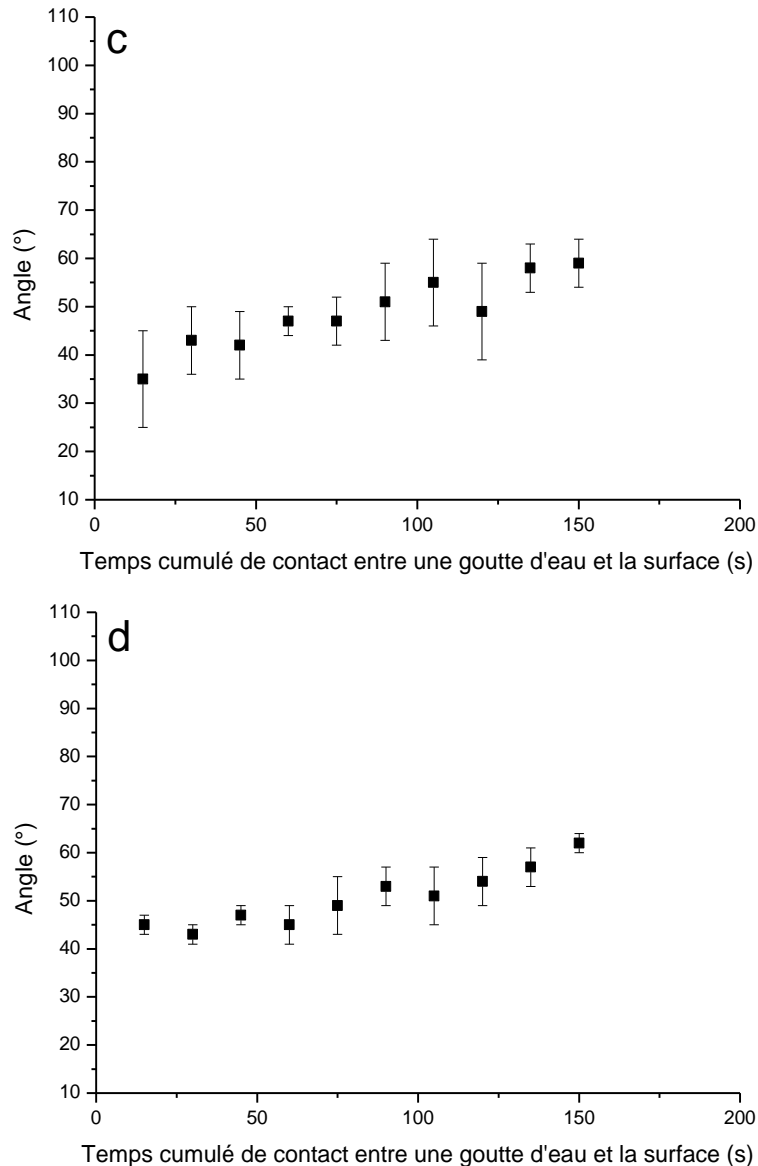


Figure 106: Evolution des angles de contact pour des pastilles ayant subi 2 passages (2 760 kJ/cm²) (c) et 4 passages (5 520 kJ/cm²) (d) sous la source UV.

Aucune augmentation de l'hydrophilie de la surface n'est acquise (figures ci-dessus). L'évolution des angles de contacts des surfaces irradiées ne présentent pas de différences significatives avec l'état vierge. L'augmentation progressive des valeurs suit l'évolution des surfaces vierges et reste dans l'intervalle d'erreur du goniomètre ($\pm 5^\circ$). Ce qui mène à une stabilisation à des valeurs plateaux. Si les irradiations UV ont eu un impact sur la surface, il est très faible et non caractérisable par le goniomètre. Les valeurs de $20 \pm 4^\circ$ obtenues précédemment après un stockage en étuve (valeurs initiales comprises entre 60 et 80°) ne sont observées dans aucun cas de figure. Il semble que dans ces conditions expérimentales, l'impact de l'irradiation UV sur la mouillabilité ne puisse pas être observé rapidement .

Sur les surfaces conservées en étuve, un seul passage permettait d'observer une modification des évolutions. Dans le cas du stockage en dessiccateur qui permet une meilleure répétabilité des résultats, il s'avère que même 4 passages ne permettent pas d'observer une différence entre l'état vierge et l'état irradié. La meilleure préparation et conservation des surfaces pourraient donc compenser l'impact que les irradiations UV ont sur les surfaces. La comparaison précédente avec les travaux de (Yasuda et al., 2017) au sujet d'une décontamination par l'ozone et des radicaux O^* ne semble plus être envisageable. Les conditions d'une surface initiale plus hydrophobe et possiblement plus contaminée semble en être la cause. Une irradiation des surfaces HAG rapide avec le dispositif, dans les conditions de travail établie par la répétabilité de mesures, ne serait donc pas envisageable. Une solution concevable serait d'augmenter le temps d'irradiation comme l'évoque la littérature concernant les irradiations UV. De nombreux temps d'irradiations différents allant de quelques minutes à plusieurs heures y sont visibles (Kaneko et al., 2020; Moroi et al., 2018). Il faudrait alors déterminer la puissance à fixer pour la lampe UV qui ne peut pas être de 100%. A pleine puissance, les irradiations UV ne peuvent être que brèves car la lampe entre vite dans des gammes de températures qui la font surchauffer. Une irradiation en continue ne peut pas être effectuée dans ces conditions.

Les diffractogrammes des différentes irradiations sont visibles sur la figure 107. Aucun pic ne provenant pas de la phase d'HA ne fait son apparition sur les échantillons traités. Il n'est également pas noté d'élargissement de pics caractéristique d'une diminution de la cristallinité des surfaces.

Il n'est donc pas observé de modifications au niveau de la phase cristalline des échantillons même après quatre passages sous la source UV. La rugosité de surface mesurée par profilométrie ne présente pas non plus de différence avec des valeurs de R_a aux alentours de $0,10 \mu\text{m}$ comme pour les pastilles vierges.

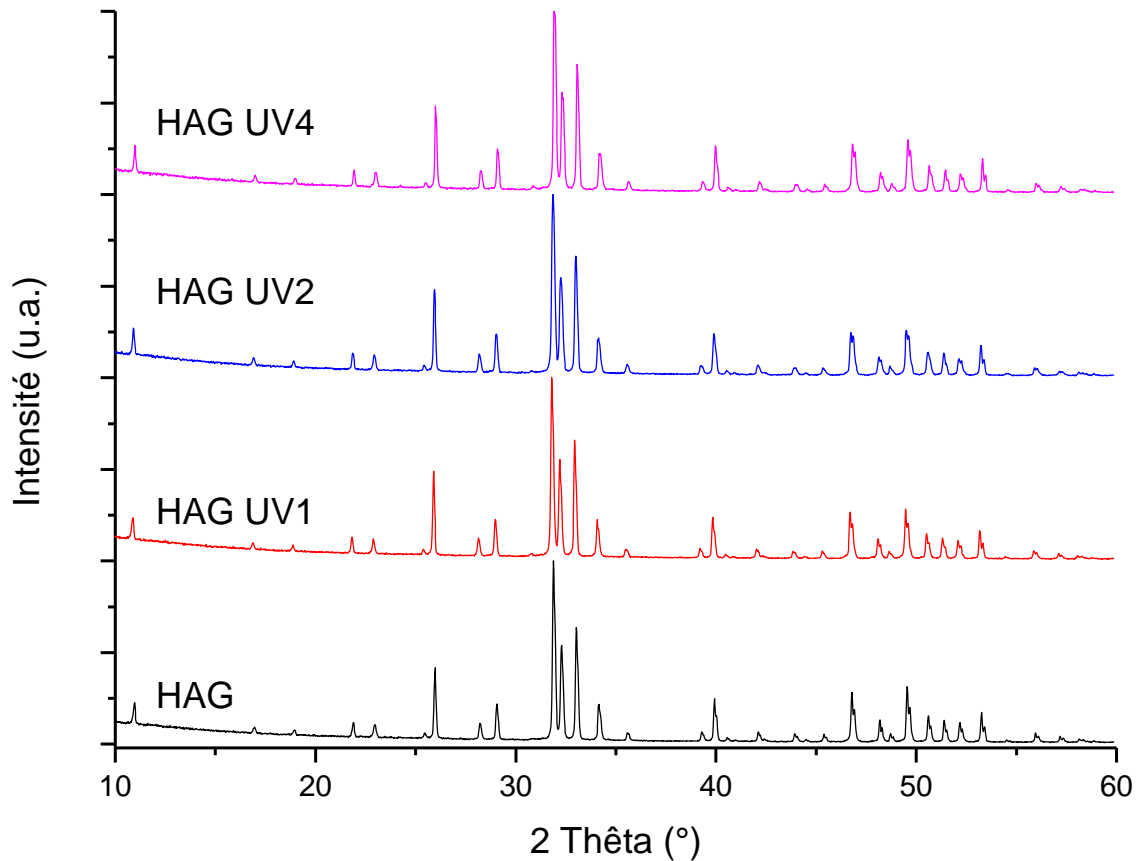


Figure 107: Diffractogrammes de 4 pastilles. HAG est une pastille de référence vierge, HAG UV1 une pastille irradiée sous UV (1 passage à 100%), HAG UV2 une pastille irradiée sous UV (2 passages à 100%) et HAG UV4 une pastille irradiée sous UV (4 passages à 100%).

En observant la surface des pastilles avec le temps d'irradiation le plus élevé au MEB, celles-ci ne présentent pas de modifications chimiques ou structurales apparentes (figure 108). Hormis les crevasses formées par le polissage, il n'est pas décelé de différences flagrantes avec les surfaces vierges. Les images en électrons rétrodiffusés ne nous indiquent pas non plus la présence d'autres éléments que de l'HA en surface par contraste chimique. Les irradiations UV ne sont pas connues pour induire une modification structurale importante sur les surfaces exposées. C'est bien pour cela que cette technique est couramment utilisée pour stériliser les surfaces (Wei et al., 2009). Mais comme dans chaque cas, il est nécessaire de faire des vérifications afin de s'en assurer. Les travaux de (Moroi et al., 2018) en sont un exemple avec une inégalité de surface obtenue après irradiation UV sur de l'HA non frittée combiné à un acide polylactique. Des cristaux d'HA sont retrouvés en grande quantité par MEB.

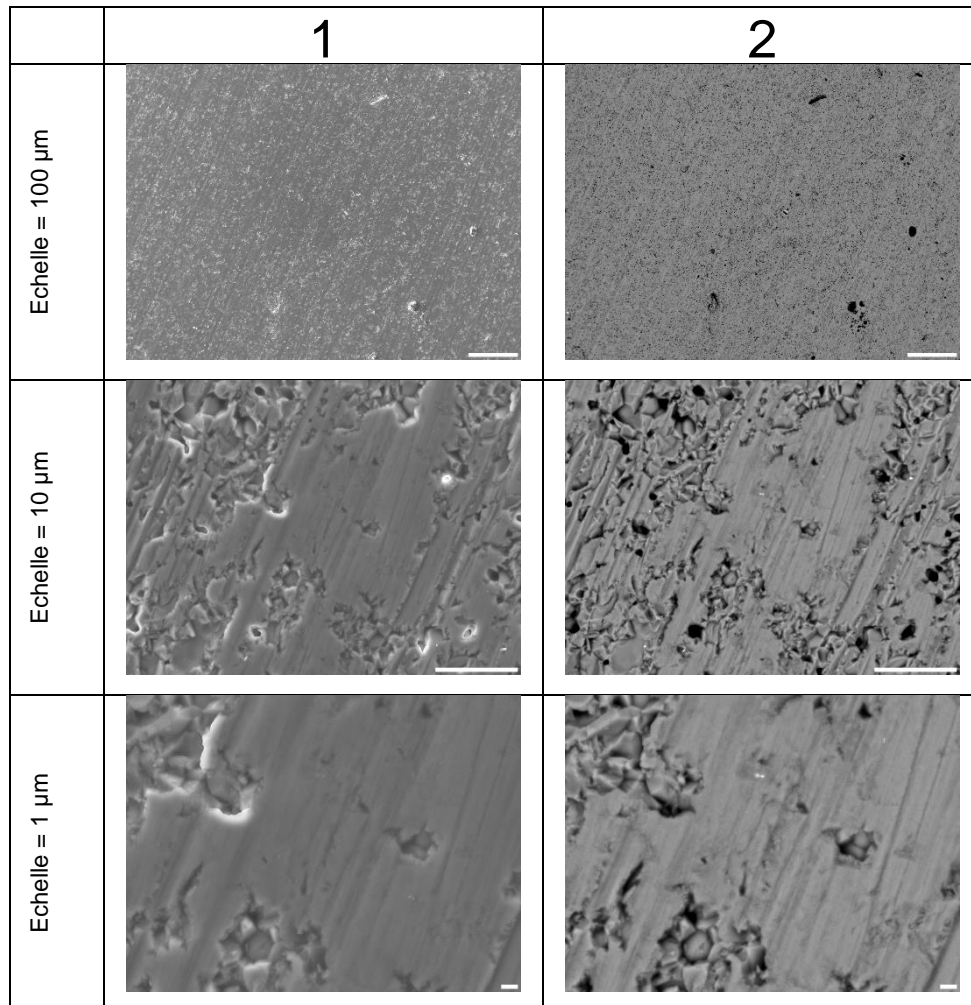


Figure 108: Images MEB d'une pastille irradiée en UV (4 passages, 5 520 kJ/cm²). Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.

En complément de cela, les analyses ToF-SIMS qui suivent vont nous donner des informations en profondeur du matériau sur quelques couches atomiques. Les différences notables avec l'analyse des surfaces vierges sont la sous-estimation (Chap II p 49) des pics de Ca^+ et de CaOH^+ pour les spectres positifs ainsi que des pics O^- , OH^- en plus des pics PO_2^- et PO_3^- pour les spectres négatifs. Tous ces pics font référence aux éléments principaux de l'HA, nous indiquant la présence en surface de ces éléments en plus grande quantité. La couche de pollution en surface semble donc avoir été diminuée. Sa disparition complète n'est pas envisageable par la présence du pic de pollution du sodium à 23 uma et les différents pics d'hydrocarbures dont le plus significatif est celui de C_2H^- . A l'aide des données ToF-SIMS, un rapport $\text{PO}_3^-/\text{PO}_2^-$ est calculé pour différencier les différentes phases de phosphates de calcium (Chusuei et al., 1999). Il n'est pas possible dans notre cas de la réaliser à cause de la sous-estimation du nombre de coups de chacun de ces deux pics.

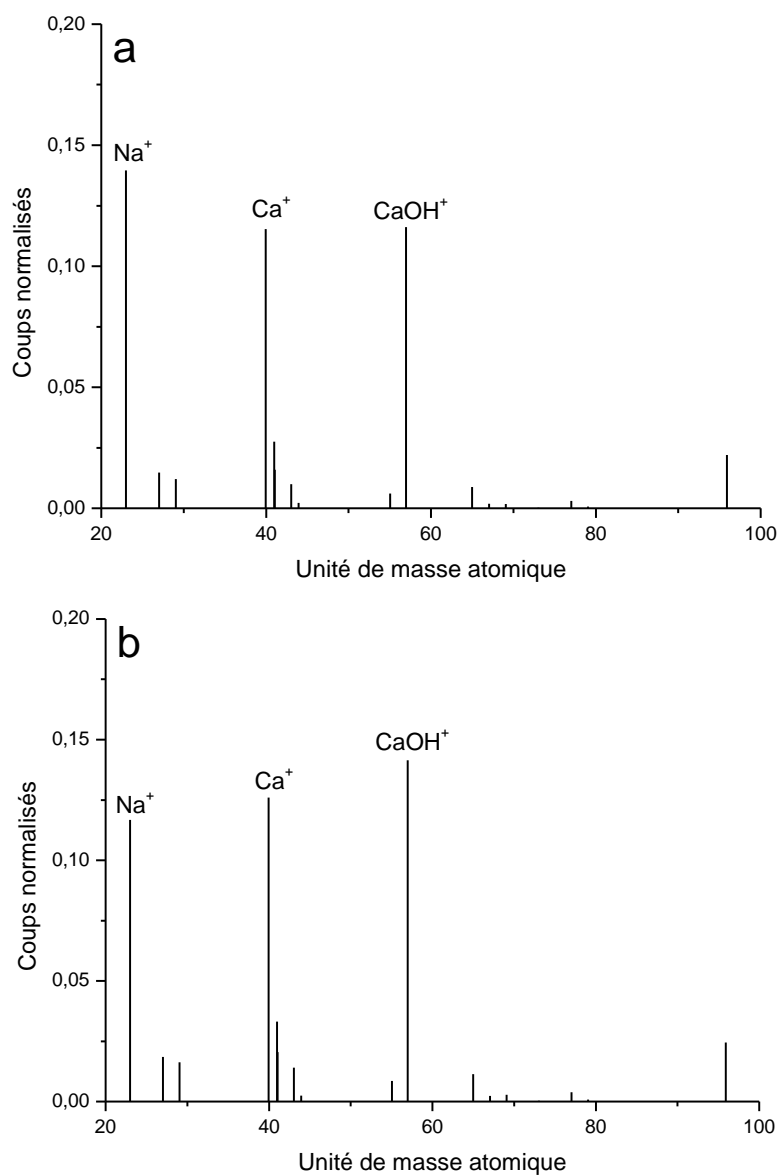


Figure 109: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG vierge (a) et HAG irradié sous UV (b).

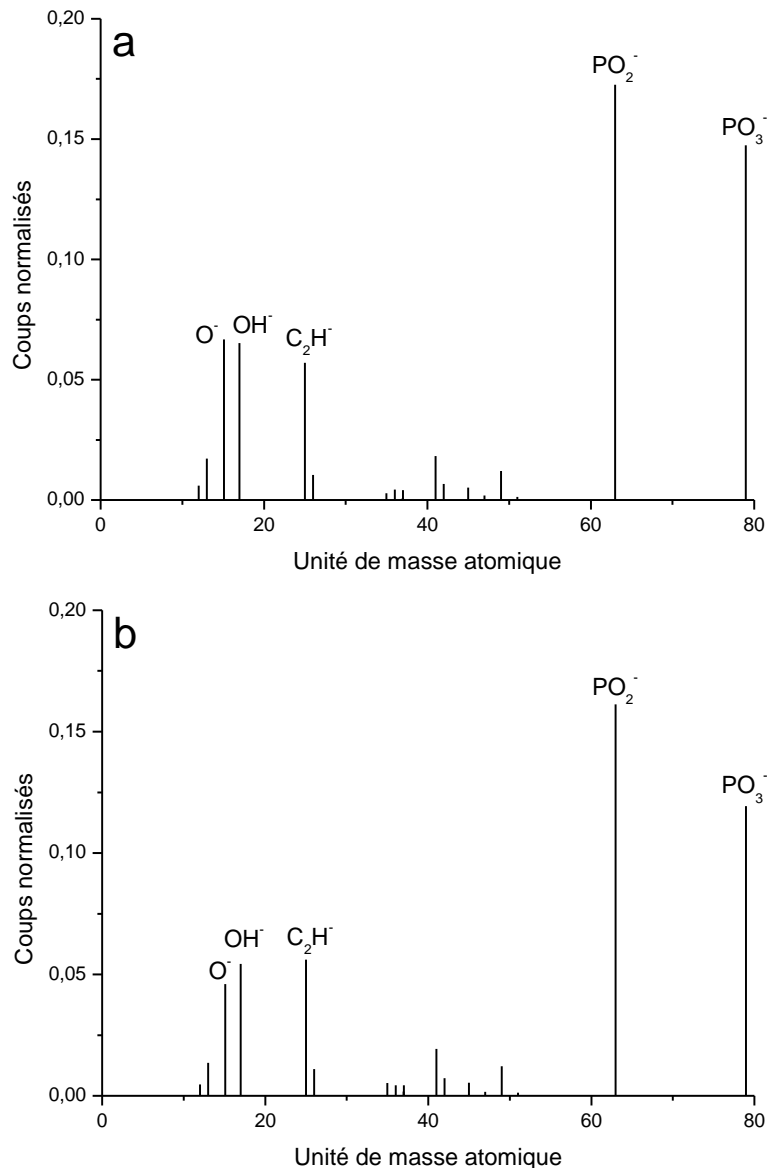


Figure 110: Spectres ToF-SIMS négatifs de HAG vierge (a) et HAG irradié sous UV (b).

La pollution de surface des échantillons qui ont subi 4 passages sous la source UV (soit 5 520 kJ/cm²) a pu être plus amplement décrite grâce aux analyses XPS. Par rapport à un état de surface vierge, la seule différence notable est la disparition du pic N1s. Le pic C1s présente toujours une contribution des quatre groupements carbonés que sont les hydrocarbures en majorité (71,7 %), les groupements alcools ou éthers (12,7 %), les groupements acétals (10,3 %) et des carboxylates ou ions carbonates (5,3 %).

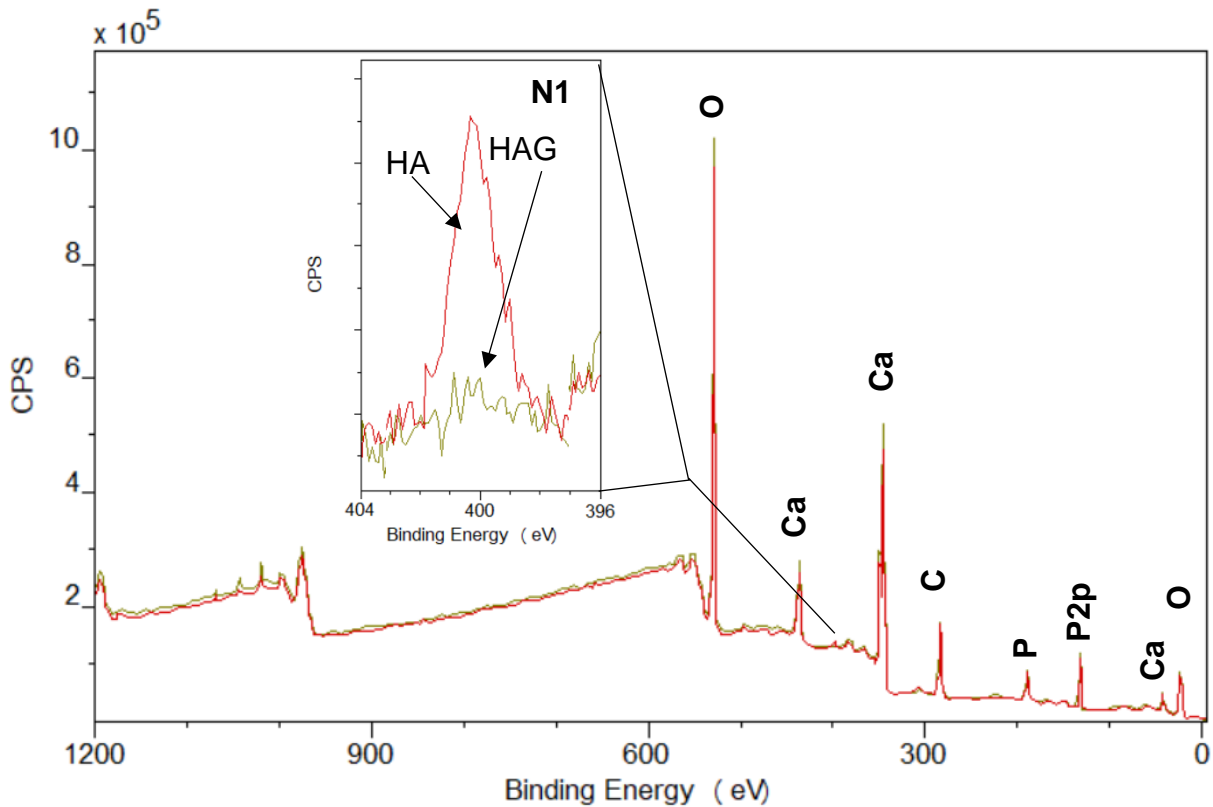


Figure 111: Spectre XPS d'une surface d'HA vierge et d'une surface irradiée en UV (4 passages, 5 520 kJ/cm²), zoom sur le pic N1s.

La figure 111 présente les spectres XPS de la surface irradiée ainsi que de la surface vierge superposée. Le pic N1s n'est plus visible après irradiation de la surface, ce qui nous révèle donc que les irradiations UV suppriment la contamination par des atomes d'azote. Il faut garder en mémoire que cette contribution sur la surface vierge est très faible (1,1 %). Une légère diminution de la participation de liaisons carbone est mesurée avec une chute de la contribution du pic C1s de 27 à 24,3 %. Mais ces facteurs ne semblent pas impactant comme le témoignent les résultats de mouillabilité précédents qui ne montrent pas de changements marquants (figure 106). La composition en éléments de cette surface reste proche de celle vierge. Le rapport Ca/P calculé à l'aide des pourcentages des pics Ca2p et P2p (tableau 39) reste logiquement dans le même ordre de grandeur avec une valeur de 1,58. Il est possible que cette pollution soit plus importante pour les pastilles stockées en étuve. L'irradiation UV serait donc en mesure de diminuer cette pollution de surface se traduisant par une chute des valeurs d'angles de goutte (figure 102).

Elément atomique	C1s	O1s	Ca2p	P2p
Composition (%)	24,3	50	15,8	9,9

Tableau 39: Composition chimique atomique en pourcentage d'une surface d'HA traitée par quatre irradiations UV.

Les précédents travaux d'irradiation de surfaces à l'aide d'une lampe UV modifiaient l'hydrophilie de surface des pastilles simplement avec un seul passage de 1,3 seconde. Il était le principal paramètre utilisé pour conclure à une modification significative des surfaces. L'établissement d'un protocole de nettoyage et de stockage dans le but d'obtenir des mesures reproductibles a également montré une influence sur l'hydrophilie des échantillons. Sur cette base, un impact significatif de l'irradiation UV ne semble plus être observable pour des temps d'irradiations courts (ici jusqu'à 5 secondes). Dans ces conditions expérimentales, l'irradiation UV n'est pas utilisable pour une modification de surface nette avec des temps d'irradiations courts. Une adaptation de paramètre est nécessaire afin de pouvoir traiter pendant des temps plus longs et espérer observer des changements.

2. Irradiation par plasma froid

Ce type de traitement n'a été appliqué que sur des surfaces HAG stockées en dessiccateur. La différence entre les différents traitements par plasma froid est la puissance rendue par rapport à la puissance polarisante de 10W. Les deux conditions de traitements sont à des puissances rendues de 4W et 6W.

a) Effet du temps

Les irradiations par plasma froid ont été réalisées seulement sur les échantillons stockés en dessiccateur. Les travaux réalisés par de précédents étudiants ont démontré un bon impact de l'irradiation pour rendre les surfaces hydrophiles. Cependant, la durée de vie reste limitée dans le temps avec une perte de sa détection au bout de 15 minutes à l'air ambiant seulement. Ce phénomène est également observé dans notre étude. Si la première mesure d'angle est réalisée trop tardivement, il n'est pas observé une hydrophilie accrue de la surface après l'irradiation plasma (voir tableau 40). Le temps de conservation d'un effet induit s'avère donc très limité.

Pastille	Puissance	Valeurs d'angles (°) initiales à différents endroits de la surface					Moyenne (°)	Ecart-type (°)
HAG15P	4W	45	46	40	42	38	42	3
HAG16P	4W	45	39	41	35	42	40	3
HAG18P	4W	39	40	41	45	45	42	2
HAG19P	6W	43	38	40	43	42	41	2
HAG20P	6W	37	35	36	39	37	37	1
HAG21P	6W	47	42	41	42	39	42	2

Tableau 40: Valeurs de répétabilité d'angles de goutte initiales à la surface de pastilles traitées par plasma froid. Temps d'attente de 15 minutes avant la première mesure.

Les mesures d'angles sont donc réalisées dès la sortie du dispositif afin d'en observer tous les aspects.

b) Effet de la puissance

La figure 112 présente les différentes évolutions des mesures d'angles de contact en fonction du temps pour les pastilles vierges et traitées par plasma froid.

Comme on peut le voir à l'aide des valeurs reportées dans le tableau 41, les pastilles traitées montrent une plus grande répétabilité de valeurs d'angles initiales avec des écarts types faibles. Si l'on s'intéresse tout d'abord aux irradiations réalisées à une puissance de 4W (courbe (b) de la figure 112), une faible augmentation de la mouillabilité est obtenue. Des valeurs initiales de $32\pm 2^\circ$ sont mesurées qui indiquent une légère hydrophilisation de la surface comparées aux valeurs de 40° des surfaces vierges. Néanmoins l'énergie de surface induite par l'irradiation plasma est compensée assez rapidement. Ceci est caractérisé dans les quinze premières valeurs. Après une troisième mesure qui met en évidence un saut de $10\pm 2^\circ$, une continuité transposable aux surfaces vierges est obtenue. L'annulation de l'influence de l'irradiation n'est pas complètement perdue après ce saut de valeur comme en témoignent les grands écarts types sur les valeurs qui suivent. Le temps pour atteindre les valeurs plateaux de $85\pm 5^\circ$ s'en retrouve prolongé comme nous renseigne une valeur de $75\pm 5^\circ$ obtenue.

	Pastilles vierges	Pastilles par plasma froid (4W)	Pastilles par plasma froid (6W)
Valeurs d'angles de goutte initiales	$38\pm 2^\circ$	$32\pm 2^\circ$	$21\pm 1^\circ$
Valeurs d'angles plateaux	$85\pm 5^\circ$	$75\pm 5^\circ$	$71\pm 4^\circ$
Temps pour atteindre la valeur plateau	550 s	480 s	435 s
Amplitudes entre les valeurs initiales et les plateaux	$47\pm 5^\circ$	$43\pm 5^\circ$	$50\pm 4^\circ$

Tableau 41: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations plasma effectuées.

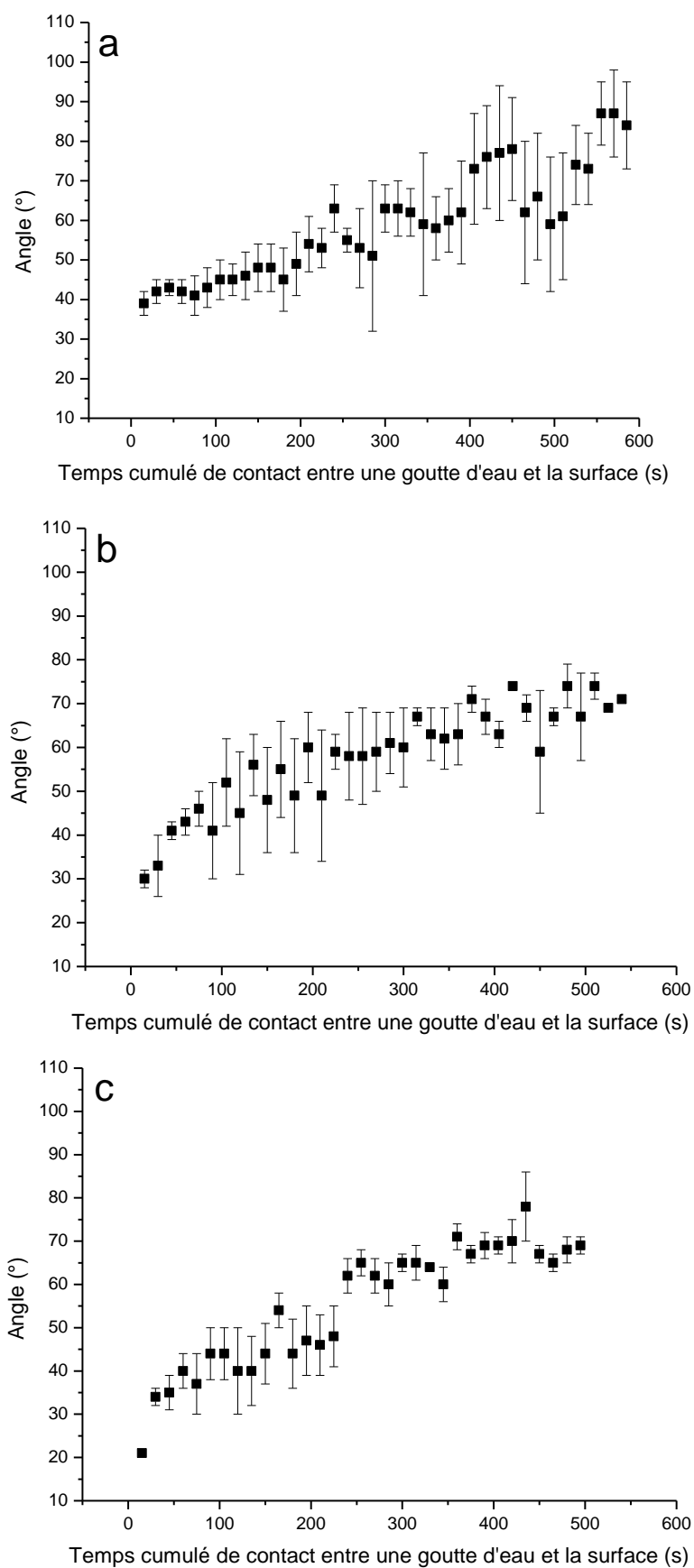


Figure 112: Evolution des angles de contact pour des pastilles vierges (a) et traitées par plasma froid à une puissance de 4W (b) et 6W (c).

Les irradiations réalisées à une puissance de 6W possèdent une excellente reproductibilité entre échantillon avec une hydrophilie accrue mesurée à $21\pm 1^\circ$ (figure 112, c). Une énergie de surface plus importante est générée à plus forte puissance. Cependant, un saut de valeur de $13\pm 1^\circ$ apparaît dès la seconde mesure. L'énergie de surface induite est donc également rapidement neutralisée. Il est remarqué un second saut vers la quinzième mesure consécutive. Ce second saut résulte d'un paramètre incontrôlable du goniomètre portatif qui, par son fonctionnement, va influencer l'étalement des gouttes déposées (Chap II p 41). Les quatre mesures qui précèdent le saut vont s'étaler dans les quatre différentes directions, mouillant à chaque fois une surface différente. Après quoi, la cinquième mesure (qui représente le saut de valeur) ne sera pas influencée par un quelconque étalement et mènera à une valeur bien supérieure aux autres. Malgré cela, la même observation de prolongement du temps pour atteindre les valeurs plateaux est notée et plus significatif pour ce dernier avec des valeurs de $71\pm 4^\circ$. Ce dernier paramètre est à prendre en considération avec précaution, les valeurs étant obtenues avec le goniomètre portatif qui a montré une certaine difficulté à déposer les gouttes à mesurer au même endroit.

Comme pour les irradiations UV, il n'est pas observé de modifications au niveau de la phase cristalline des échantillons. Les diffractogrammes sont disponibles sur la figure 113. La rugosité de surface mesurée par profilométrie ne présente pas non plus de différence avec des valeurs de Ra aux alentours de $0,10\ \mu\text{m}$ comme pour les pastilles vierges.

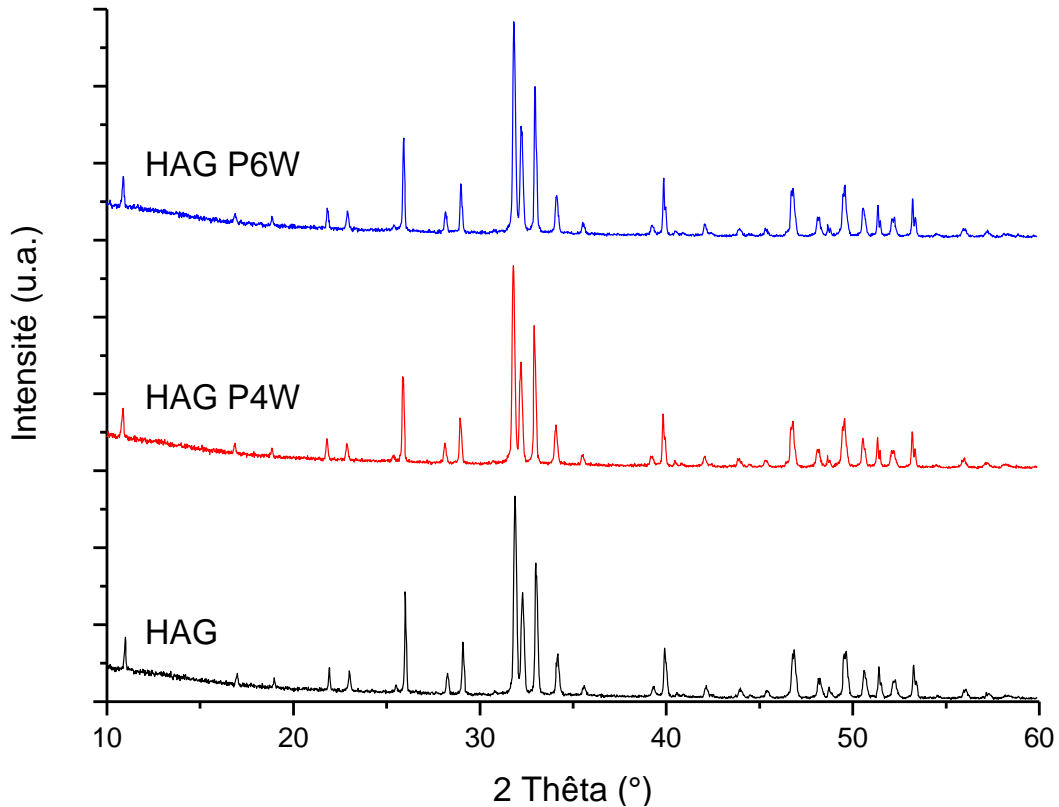


Figure 113: Diffractogrammes de 3 pastilles. HAG est une pastille de référence vierge, HAG P4W une pastille traitée par plasma froid à une puissance de 4 Watts et HAG P6W une pastille traitée par plasma froid à une puissance de 6 Watts.

Les images prises au MEB n'indiquent pas non plus de modifications chimiques ou structurales flagrantes (figure 114). Aucune différence notable avec les surfaces vierges n'est visible. L'imagerie en électrons rétrodiffusés confirme une homogénéité de la composition des surfaces et l'absence d'éléments étrangers.

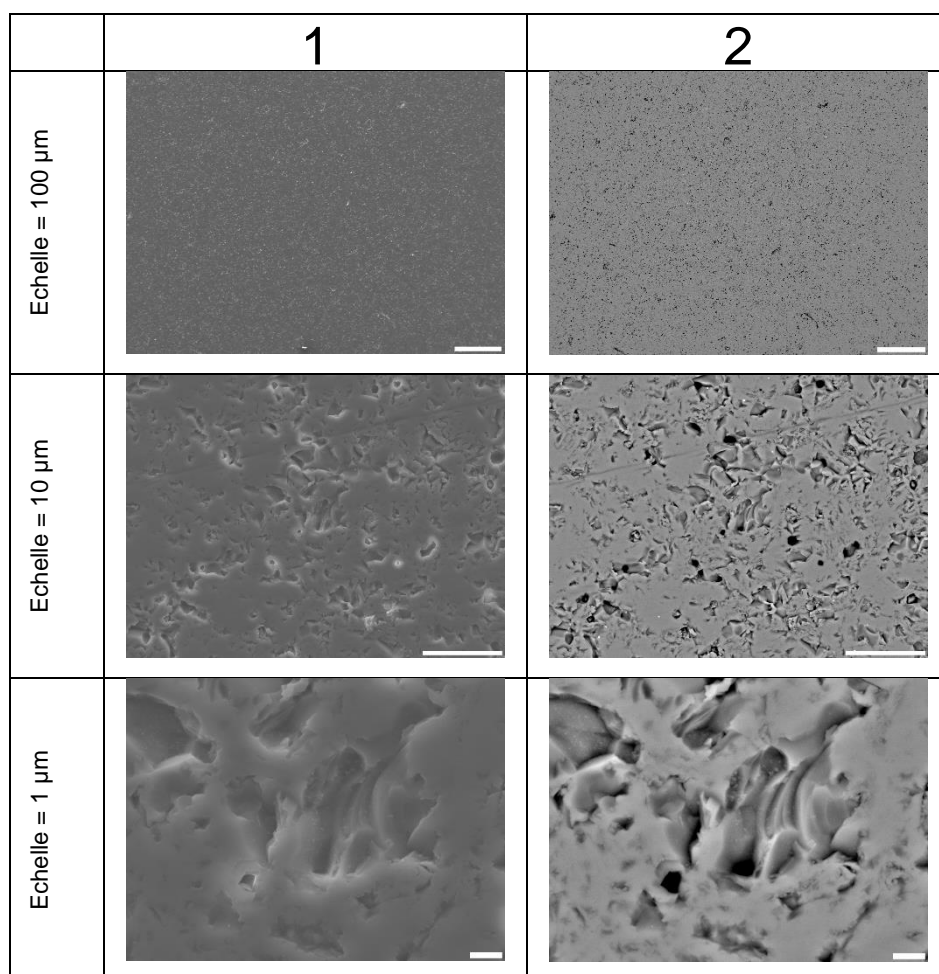


Figure 114: Images MEB d'une pastille traitée par plasma froid à une puissance de 6W. Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.

Les analyses ToF-SIMS corroborent les observations MEB et sont similaires aux irradiations UV. Une sous-estimation des pics de Ca^+ et de CaOH^+ pour les spectres positifs ainsi que des pics O^- , OH^- en plus des pics PO_2^- et PO_3^- pour les spectres négatifs. La présence en surface de ces éléments en plus grande quantité nous révèle la diminution de la pollution de surface après irradiation. Son élimination totale n'est pas possible par la présence de sodium à 23 uma et de pics d'hydrocarbures comme C_2H^- . Le rapport $\text{PO}_3^-/\text{PO}_2^-$ ne peut toujours pas être calculé.

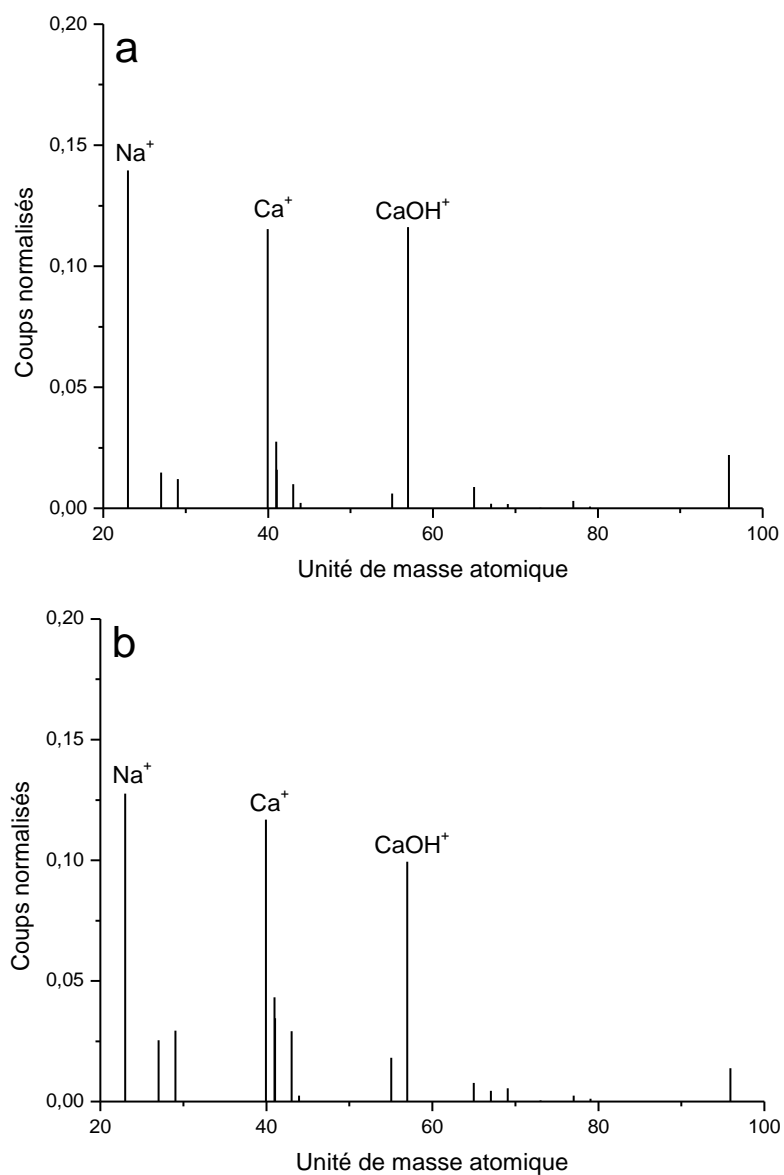


Figure 115: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG vierge (a) et HAG traité par plasma froid (b).

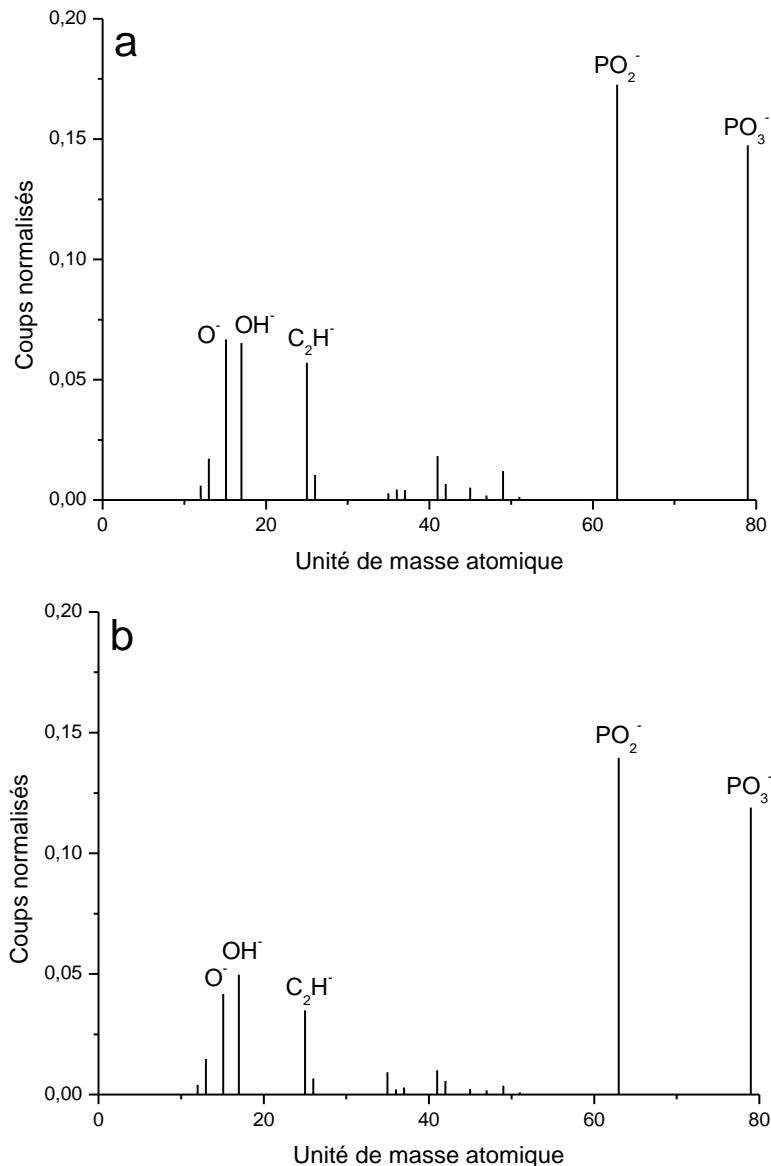


Figure 116: Spectres Tof-SIMS négatifs de HAG vierge (a) et HAG traité par plasma froid (b).

Une surface traitée pendant 2 minutes à une puissance de 6W est analysée par XPS. La seule différence notable sur les pics en commun avec un état de surface vierge se situe une fois encore sur le pic N1s (figure 117). Contrairement aux irradiations UV qui ont permis de complètement éliminer la présence d'atomes d'azote en surface des échantillons, l'irradiation des surfaces par plasma froid conduit à une forte diminution de celui-ci. Il n'y a plus qu'une participation de 0,3% à la composition élémentaire de la surface contre 1,2 % pour la surface vierge. La pollution de surface par des groupements carbonés comprend toujours la même contribution de quatre types de liaison avec l'élément carbone que sont les hydrocarbures (78,7 %), les alcools ou éthers (8,4 %), les acétals (9,2 %) et les carboxylates ou ions carbonate (3,7 %).

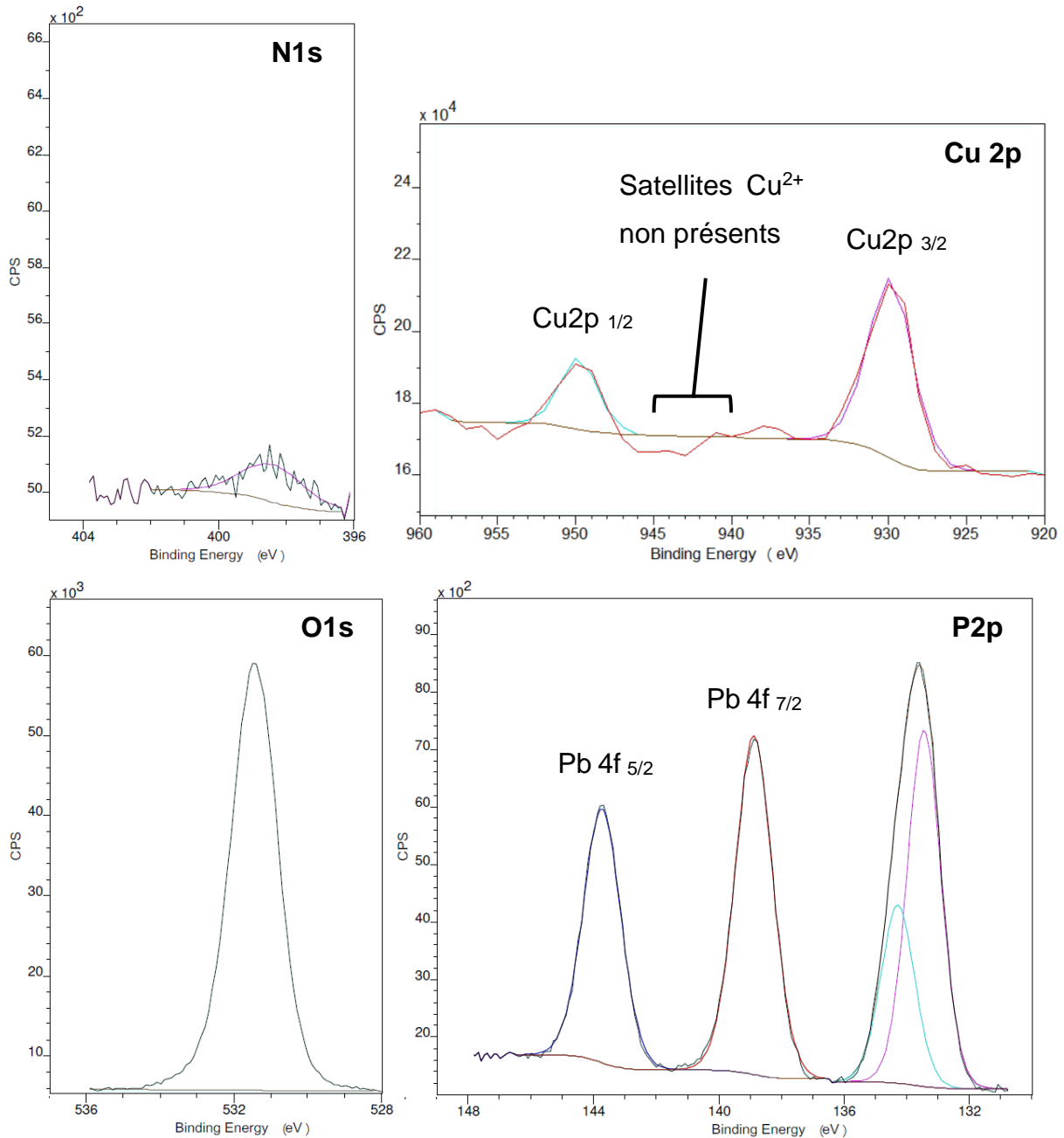


Figure 117: Pics XPS N1s, P2p, Pb et Cu2p de la surface traitée par plasma froid à une puissance de 6W.

Néanmoins, le dispositif réactionnel de laboratoire est mis en cause pour un problème de pollution qui implique les constituants de la cathode. En effet, on peut observer sur la figure 117 quatre nouveaux pics faisant référence à 2 nouveaux éléments présents en surface des échantillons, le cuivre et le plomb.

Dans le cas du cuivre, nous pouvons déterminer s'il s'agit d'un dépôt de métal en surface ou bien d'une forme oxydée qui a pu réagir avec les atomes d'oxygène de l'HA. Pour ce faire, il suffit de regarder la présence ou non de pics entre 940 et 945 eV (figure 117, pic Cu2p) où se situent les satellites du cuivre. Le phénomène qui fait

référence à ce nom est un changement soudain de potentiel. Ce dernier est induit par un électron de la couche de cœur éjecté par photoionisation traversant la couche de valence. Dans le cas d'un oxyde de cuivre (Thermo Fisher, 2013), il y a une légère apparition de deux pics à 943 eV pour un degré d'oxydation un (I). Ces pics sont beaucoup plus marqués pour le degré d'oxydation deux (II). Dans notre cas, aucun pic de satellites n'est présent dans cette gamme d'énergie de liaison, nous permettant de conclure sur un dépôt de cuivre métallique en surface des échantillons traités par plasma froid. Pour ce qui est du plomb, les deux pics à 138,9 et 143,7 eV sur le spectre XPS du pic P2p nous informent sur la présence du métal en surface. Chacun d'eux est bien un pic unique et non pas un pic décomposable en deux avec deux sommets apparents, signalant la présence de l'oxyde de plomb PbO_2 (Thermo Fisher, 2013). Il s'agit donc d'une pollution de surface du dispositif par dépôt de plomb en surface des échantillons traités. En complément de cette conclusion, le pic O1s (figure 117) reste inchangé. C'est-à-dire qu'il n'implique pas de liaisons des atomes d'oxygène avec d'autres éléments que le phosphore et l'hydrogène de l'HA. La formation d'un oxyde métallique engendrera une décomposition de ce pic.

La réalisation de ces irradiations sous une atmosphère contrôlée d'hélium n'a à priori pas d'impacts chimiques sur les surfaces. L'étude de différentes compositions en gaz de (Moriguchi et al., 2018) incrimine l'oxygène utilisé durant les expériences. Une concentration plus importante en atomes d'oxygène est visible par élargissement du pic O1s. Le phénomène qui conduit à ces résultats n'est pas très bien connu mais il suppose que des atomes d'oxygène soient incorporés en charges négatives de groupements hydroxyles. Ils seraient maintenus à la surface par les charges positives des cations Ca^{2+} à la surface de l'HA. Ceci est basé sur l'hydrophilie accrue des surfaces traitées. Il est donc judicieux de conserver ce gaz rare comme atmosphère de réaction si aucune altération du matériau traité n'est souhaitée.

Le calcul du rapport Ca/P nous donne une valeur de 1,67 après irradiation plasma. Ce résultat est à considérer avec précaution alors même que le rapport Ca/P de la surface vierge est de 1,56. S'il est très révélateur pour la caractérisation de dépôts fins d'HA comme revêtement (Lu et al., 2000), il l'est beaucoup moins dans notre cas avec un matériau solide d'une certaine épaisseur et aux vues des résultats de DRX discutés plus haut.

Elément atomique	C1s	O1s	Ca2p	P2p	N1s
Composition (%)	19,9	52,2	17,3	10,3	0,3

Tableau 42: Composition chimique atomique en pourcentage d'une surface d'HA traitée par plasma.

Une amélioration de l'hydrophilie des surfaces après irradiation par un plasma froid a bien été caractérisée comme dans les travaux précédents. Le même souci de durabilité dans le temps est obtenu avec un effet perdu après 15 minutes, synonyme de compensation de charges. Il n'a pas été déterminé de modifications chimiques ou structurales du matériau traité en lui-même mais seulement un impact sur la pollution de surface. La modification du gaz d'hélium par un mélange He/O₂ comme atmosphère de réaction pourrait améliorer la durabilité de l'irradiation. Il faudrait cependant accepter la possibilité d'une modification chimique du matériau par la génération de groupements hydroxyles en surface.

3. Combinaison d'une irradiation UV et d'une irradiation électronique

Le point de départ de cette étude est la disparition de la pollution de surface liée à l'azote observée par XPS pour les irradiations UV (figure 111). Est-ce qu'une irradiation électronique précédée par une irradiation UV permettrait d'améliorer l'effet du second. Il a donc été réalisé un passage sous la source UV pour une dose de 1380 kJ/cm² puis une irradiation électronique à une dose de 640 kGy.

Une contribution de l'irradiation UV semble visible pour influencer une augmentation de l'hydrophilie des surfaces irradiées. Les irradiations électroniques ont été réalisées dans les mêmes conditions que précédemment et une diminution des valeurs d'angles de goutte initiales de 5° est observable (tableau 43).

La contribution de l'irradiation UV est indiscutable. Les mesures d'angles de goutte après une irradiation UV seule n'avaient pas conduit à une modification significative, ce qui n'est plus le cas ici.

	Pastilles vierges'	Pastilles EB irradiées sous air	Pastilles UV puis EB irradiées sous air
Valeurs d'angles de goutte initiales	38±2°	19±4°	14±1°

Tableau 43: Valeurs d'angles de goutte initiales pour les irradiations électroniques à une valeur de 460 kGy et les irradiations consécutives par UV puis par des électrons.

Il est également constaté un effet plus ou moins persistant dans les premières mesures. Le phénomène d'étalement dans plusieurs directions est dans ce cas observé dès les premières mesures. Cela donne des valeurs inférieures à 20° pour les

trois à quatre premières mesures d'angles. L'énergie de surface semble donc plus difficile à dissiper. Ce phénomène ne permet pas une comparaison des évolutions des mesures d'angles de goutte dans le temps. Une nouvelle étude avec d'autres paramètres seraient donc à élaborer pour pouvoir comparer correctement ses résultats. Les expériences n'ont pas été poussées jusque-là pour se concentrer sur les résultats déjà existants.

Les analyses DRX et de profilométrie ne montrent aucune différence avec les surfaces vierges. Il a aussi été observé des zones modifiées sur la surface des échantillons comme pour une irradiation électronique seule. La forme en aiguilles des grains ainsi que la taille des zones modifiées de 10 μm sont retrouvées (figure 118).

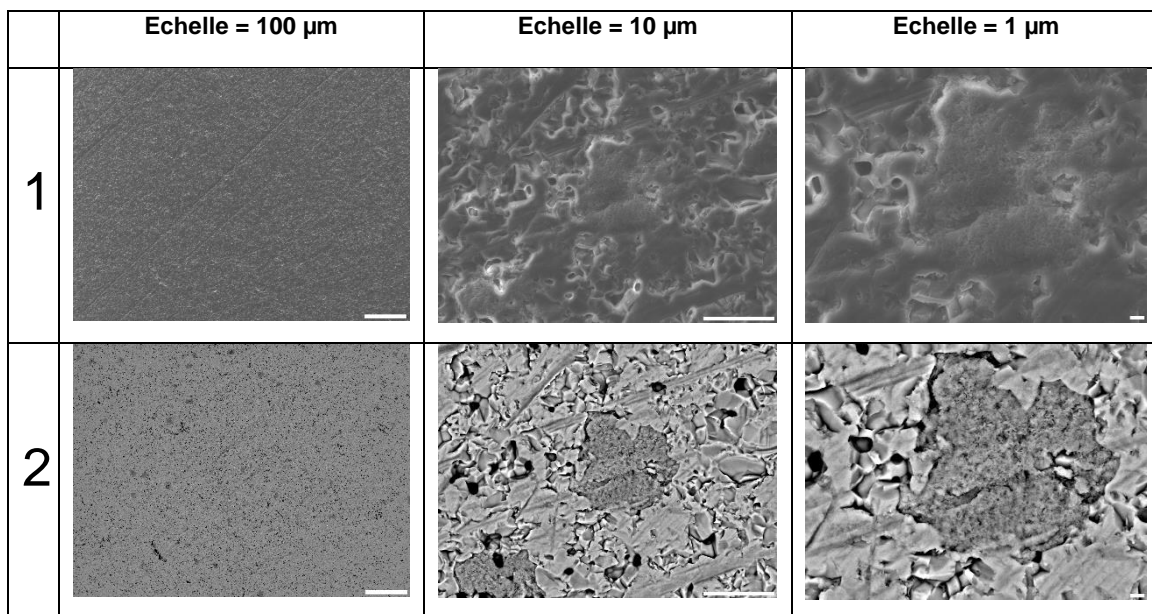


Figure 118: Images MEB de pastilles irradiées successivement par UV puis par électrons. Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.

Il a été étudié de nombreux aspects pour les différents traitements de surface que sont l'irradiation UV, l'irradiation par plasma froid et l'irradiation électronique. En ce qui concerne les irradiations UV, le changement de protocole ne permet plus d'observer une hydrophilie accrue après une irradiation de 1380 kJ/cm^2 (un passage sous la source). Il a été étudié jusqu'à quatre fois cette dose sans modification significative de ce paramètre qui était utilisé principalement pour conclure d'une modification des surfaces. La perte d'une certaine pollution de surface après irradiation en XPS indique que son impact n'est pas complètement nulle. Des temps d'irradiations plus longs doivent donc être étudiés, forçant une toute autre approche qu'une rapide irradiation d'une seconde. Les irradiations par plasma fournissent des surfaces dont l'hydrophilie

a été augmentée comme lors des travaux précédents (figure 112 et tableau 41). Le changement de protocole de préparation n'a pas été impactant. En revanche, le même souci de durabilité de l'effet dans le temps s'est fait ressentir. Après quinze minutes, la modification n'est plus observable synonyme d'une compensation des charges dans le matériau pour un retour à un état initial. Aucune modification chimique ou structurale, à l'aide des techniques de caractérisation, n'a été aperçue après irradiation. Pour remédier à ce problème, des temps d'irradiation plus longs ou encore une atmosphère réactive avec le matériau peuvent être envisagés. Enfin pour l'irradiation électronique, de nombreux paramètres ont fait l'objet de variations. Cela a permis de déterminer les capacités de modifications des surfaces du dispositif pour une seule irradiation d'une seconde. Il en est ressorti de meilleurs résultats dans des conditions où la tension d'accélération des électrons est à son maximum. En partant de ce paramètre, les irradiations conduites sous une atmosphère contrôlée d'azote n'ont pas fourni de meilleurs résultats d'hydrophilie par rapport aux irradiations sous air, c'est même le contraire. Une possible contribution à l'augmentation des charges de surface d'atomes d'oxygène en surface pourrait permettre d'expliquer cela (Moriguchi et al., 2018). Néanmoins, les analyses XPS ont montré la même modification des énergies de liaisons pour le pic O1s, mettant à mal cette hypothèse.

Chapitre V : Résultats in vitro

Chapitre V: Résultats in vitro

Dans cette partie, les modifications de surface générées par irradiation électronique qui ont montré un plus gros potentiel avec certains paramètres vont être étudiées (figure 88 et figure 89). Le but des expériences qui vont suivre va être l'amélioration de l'adsorption d'un principe actif en surface des pastilles d'HA et si possible de prolonger la libération dans le temps d'une molécule bioactive qui n'est autre que la gentamicine. Ces modifications de surfaces observées peuvent prendre part aux échanges et apporter des effets bénéfiques. La surface réelle pouvant être augmentée, elle pourrait agir comme le fait une porosité d'un matériau (Chai et al., 2007; Taha et al., 2013). Afin de mener à bien des études in vitro, une étape importante de préparation des échantillons doit être réalisée, la stérilisation. Cette étape sert à détruire tout microbe ou germe qui va fausser les résultats des expériences. Il n'existe pas de technique de stérilisation universelle. C'est pourquoi, le choix se fait en fonction du matériau à stériliser. Dans notre cas, plusieurs techniques vont être tester et la plus favorable sera utilisée par la suite.

A. Stérilisation des surfaces

Pour la première méthode de stérilisation, les surfaces traitées sont placées à 180 °C dans une étuve à l'intérieur d'un support en verre fermé pendant deux heures. Comme on pouvait s'y attendre après les problèmes rencontrés avec le stockage en étuve sous vide, ce moyen de stérilisation n'est pas adapté. Les mesures de mouillabilité de surface présentes dans le tableau 44 sont plus élevées que les précédentes irradiations. L'homogénéité de la surface est cependant bien respectée (figure 7). Il est obtenu un intervalle proche de celui du stockage en étuve qui rend les études de comparaison entre les échantillons impossible. Ce moyen de stérilisation ne permet pas de conserver les propriétés de surfaces induites par l'irradiation électronique.

Méthode de stérilisation	Pastilles irradiées sous air
Sans stérilisation	19±4°
2 heures en étuve à 180 °C	Comprise entre 65° et 80°
Sachet de stérilisation	50±3°
Films PET (épaisseur 13 µm)	52±4°

Tableau 44: Valeurs initiales d'angles de goutte obtenues après irradiation à une dose de 640 kGy pour les différents moyens de stérilisation testés.

La seconde méthode nécessite l'utilisation de sachets de stérilisation. L'échantillon est placé dans un sachet scellé puis la stérilisation se fait par passage sous une source de rayons gamma (Costa et al., 1998). L'idée ici a été de déterminer si l'irradiation par bombardement électronique peut être faite alors que la pastille est contenu dans le sachet pour permettre une stérilisation par la suite aux rayons gamma. Plusieurs pastilles sont donc scellées dans un sachet pour être ensuite irradiées à une dose de 640 kGy. Le premier problème rencontré est la dose d'irradiation qui semble être beaucoup trop importante pour le sachet. A la base souple, il va devenir raide et même dans certains cas se déformer, la stérilité du sachet n'est donc plus sûre à 100 %. Les pastilles qui sortent de ces sachets traités ne montrent pas une hydrophilie de surface accrue, ce qui indique que la surface transparente du sachet ne permet pas de délivrer l'irradiation à la surface à traiter. Cette technique est donc également à écarter.

La troisième méthode consiste à exploiter les propriétés d'un film Poly(téréphtalate d'éthylène) (PET). Ce type de polymère est utilisé dans les industries pharmaceutiques et alimentaires pour transporter des éléments qui doivent être stérilisés avant leur utilisation (Ho and Pometto III, 1999). Comme les précédents sachets, un film PET de 13 µm d'épaisseur a été placé entre les surfaces à traiter et la source d'électrons afin de déterminer si le polymère peut être traversé par les électrons et ainsi modifier à l'identique la mouillabilité de surface des pastilles. Malheureusement, comme les sachets de stérilisation, le film PET ne résiste pas bien à la forte dose appliquée et se déforme. Ce qui peut conduire à un dépôt du polymère sur la surface de certaines pastilles qui fausse les mesures pré-irradiation. Les valeurs d'angles nous montrent qu'il n'est pas possible de réaliser des irradiations à travers un film PET.

En raison des résultats non concluants des techniques de stérilisation précédentes, il a été décidé après discussion que la gentamicine allait conduire à une stérilisation satisfaisante des échantillons. Les pastilles sont immergées dans une solution fortement concentrée en gentamicine (10 mg/mL) pendant trois heures. Une température de 37°C ainsi qu'une rotation de 78 rpm sont appliquées pour simuler des conditions physiologiques. La gentamicine est un des antibiotiques les plus couramment utilisés dans certains domaines pharmaceutiques (Winger and Fass, 1996). Il est alors énoncé le postulat suivant : la concentration élevée en gentamicine permet d'optimiser la stérilisation des surfaces

B. Etude biologique, libération de principes actifs (gentamicine)

Dans un premier temps, la concentration maximale de gentamicine pouvant être libérée par les différents échantillons est obtenue par mesure des concentrations sur les pastilles qui n'ont pas subi de prélèvements pendant les 72 heures d'expériences. Elles sont représentées sur l'histogramme de la figure 119. Les quantités de gentamicine libérées par les pastilles traitées sont plus importantes que les pastilles vierges. Elles s'élèvent à $9,10^{-2}$ mg/cm² pour ces dernières et à $1,2,10^{-1}$ mg/cm² pour les surfaces traitées. On peut donc déjà conclure que l'irradiation électronique, qu'elle ait été réalisée sous air (EB) ou sous azote (N), permet de capter plus de principes actifs en surface des échantillons. Ce qui favorise le relargage d'une plus grande quantité de gentamicine en solution. Les charges de surface induites par l'irradiation dynamisent l'absorption de la gentamicine qui est une molécule chargée positivement.

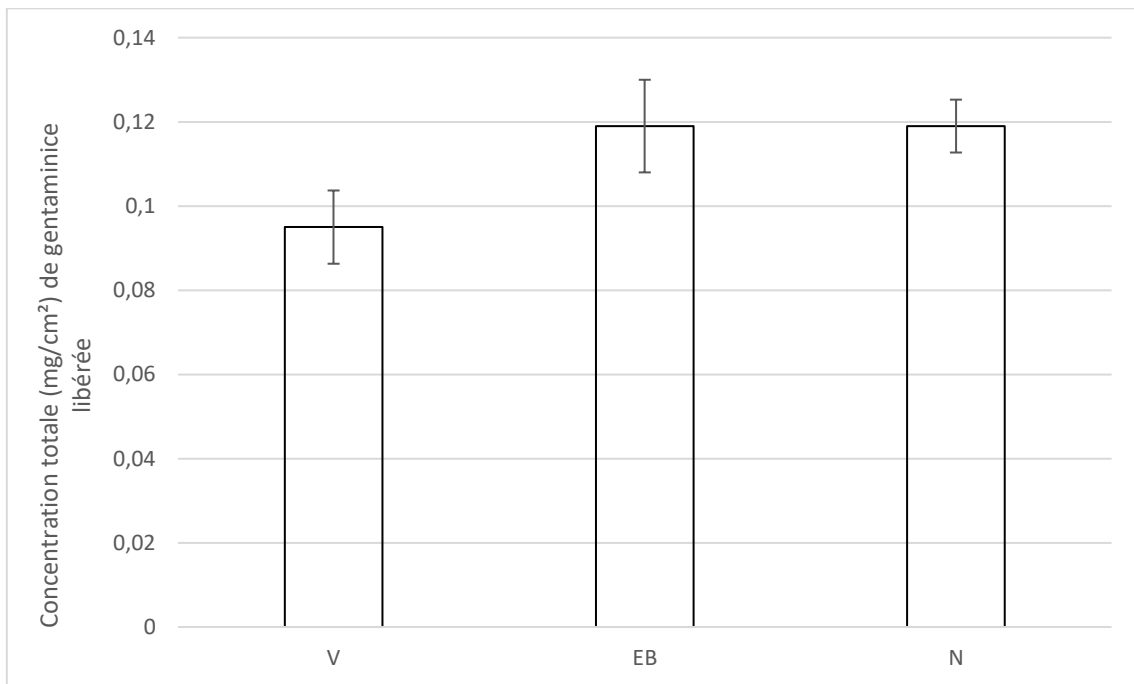


Figure 119: Histogramme de la concentration totale moyenne (en mg/cm²) de gentamicine libérée par les échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy) qui n'ont pas subi de prélèvements.

Il est à noter que les quantités maximales de libération de gentamicine des pastilles qui ont subi une série de prélèvements sont plus importantes que celles qui n'en ont pas subi (figure 119). Cela peut s'expliquer par le fait que la quantité maximale de relargage de gentamicine dans 1 mL de PBS a été atteinte. Un équilibre s'est alors formé entre la quantité de principes actifs en solution et la quantité restante en surface des pastilles.

Si l'on s'intéresse maintenant au dosage de la gentamicine en UV à l'aide des prélèvements, les antibiogrammes qui suivent (figure 120) nous informent d'une nette augmentation de la quantité de gentamicine libérée des échantillons irradiés. Pour le premier temps $t=5\text{min}$, les quantités de principes actifs libérés sont deux fois supérieures. La moyenne de concentration en gentamicine libérée par les échantillons irradiés sous air (EB) et sous azote (N) est supérieure de $2,6,10^{-2}\pm 0,9,10^{-2}\text{ mg/cm}^2$ et de $2,9,10^{-2}\pm 0,3,10^{-2}\text{ mg/cm}^2$ respectivement par rapport à la moyenne des échantillons vierges (V). Ces valeurs moyennes restent supérieures jusqu'à $t=1\text{h}$ pour les prélèvements EB ($1,7,10^{-3}\pm 2,10^{-3}\text{mg/cm}^2$) et $t=30\text{min}$ pour les prélèvements N ($6,10^{-3}\pm 4,10^{-3}\text{mg/cm}^2$). Après quoi, les quantités mesurées avec l'appareil UV sont trop faibles pour en tirer des résultats exploitables. Il est discuté plus en détail de ces concentrations dans la partie Chapitre V:D de ce chapitre.

Si l'on compare les quantités de gentamicine libérées en pourcentage (figure 121), toujours entre les échantillons irradiés et vierges, seul une nette différence est observable à $t=5\text{min}$ avec une libération supérieure de $11\pm 3\%$ et de $14\pm 1\%$ pour les prélèvements EB et N respectivement. Les différences de concentration en gentamicine à partir du second temps $t=15\text{min}$ ne sont pas significatives (à peine quelque pour cent). Il semblerait donc que la quantité supplémentaire de gentamicine adsorbée par les surfaces EB et N soit relarguée rapidement dans les cinq premières minutes. Les prélèvements suivants montrent une différence non significative d'un à deux pour cent. La libération du principe actif se fait donc de la même façon pour toutes les pastilles par la suite. Les quantités restent supérieures pour les prélèvements des surfaces traitées grâce aux valeurs supérieures à $t=5\text{min}$.

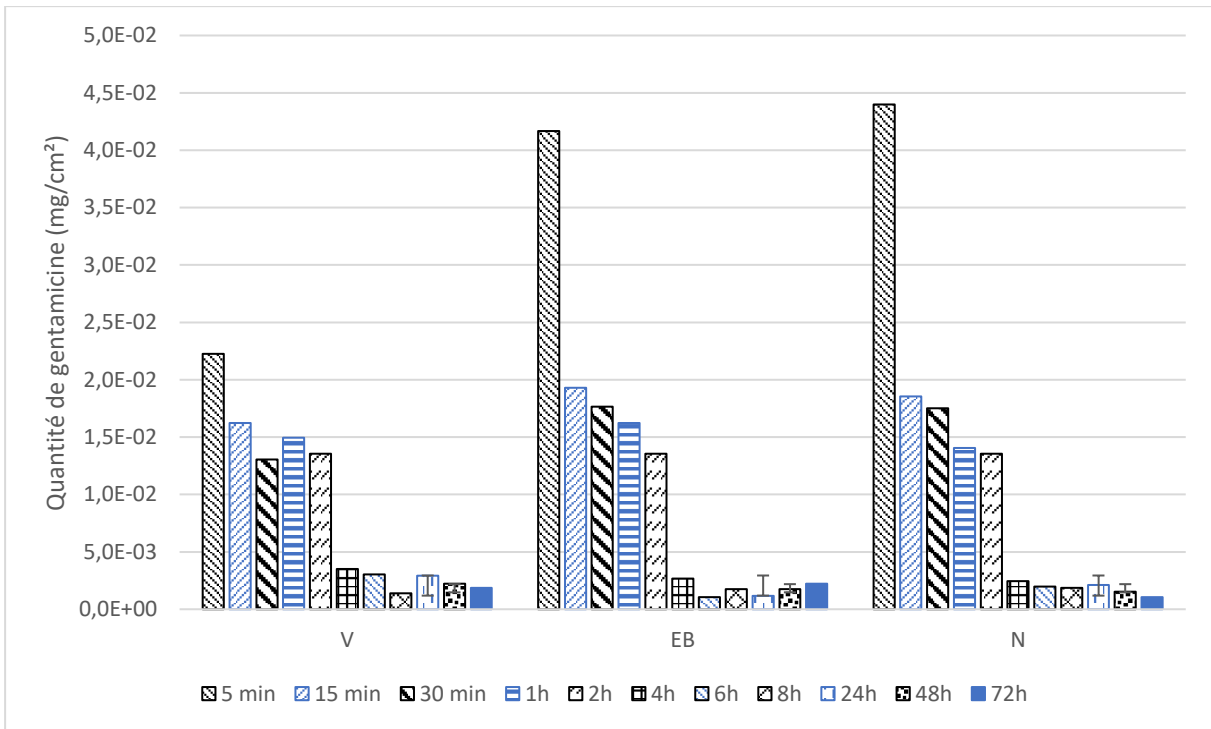


Figure 120: Antibiotogrammes de la quantité de gentamicine (mg/cm²) présente sur les échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

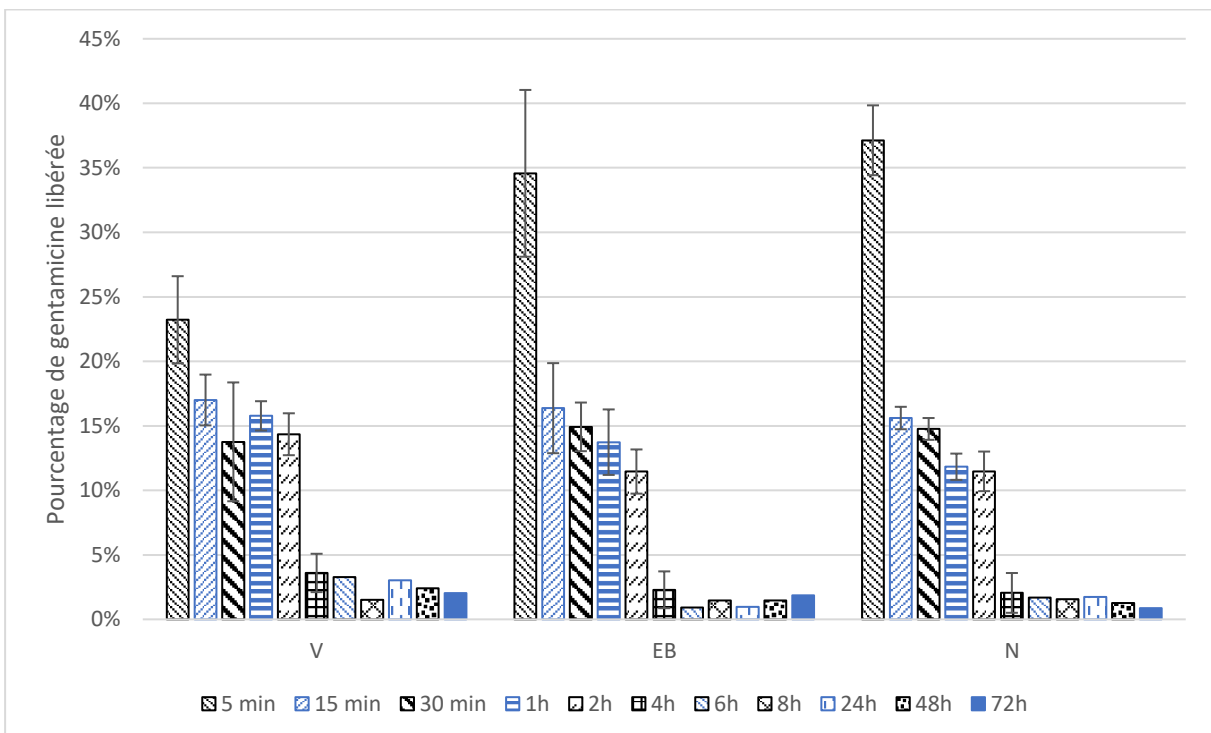


Figure 121: Antibiotogrammes du pourcentage de libération de gentamicine des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

Il est intéressant d'étudier ces résultats sous un autre angle. Les profils cumulés de la figure 122 nous permettent d'approfondir les résultats sur les quantités de gentamicine libérées ainsi que sur la vitesse de libération. Il s'agit d'additionner les concentrations de gentamicine au fur et à mesure des points suivants. Ainsi, la valeur d'un

prélèvement à un temps t correspond à la somme de la valeur de ce temps additionnée à toutes les valeurs de prélèvements précédentes. Il est bien observé une quantité de gentamicine libérée plus importante pour les surfaces traitées par rapport aux surfaces vierges (figure 122, a) avec les courbes EB et N toujours supérieures à la courbe V. Les surfaces EB et N ont un comportement similaire comme nous le montre la superposition de leur courbe respective. La vitesse de libération du principe actif est également supérieure pour les surfaces traitées (figure 122,b) toujours sans une grande différenciation entre les prélèvements EB et N. Un phénomène appelé « burst » est observable sur les courbes EB et N jusqu'à $t=2h$. La pente de courbe dans cet intervalle est plus raide, ce qui traduit des quantités libérées (Figure 122,a) et une vitesse de libération (Figure 122,b) plus élevées dans cet intervalle.

L'étude biologique nous apporte plusieurs conclusions intéressantes qui indiquent de meilleurs résultats pour les surfaces des pastilles irradiées EB et N par rapport aux surfaces vierges. Tout d'abord, les quantités de gentamicine adsorbées en surface des pastilles traitées EB et N sont plus importantes. Les surfaces EB présentent la quantité la plus élevée. La vitesse de libération du principe actif est également supérieure aux surfaces vierges. Hormis les quantités initiales, il n'est toutefois pas possible de distinguer une grande différence entre les surfaces EB et N uniquement avec l'étude biologique. Une plus grande quantité de principes actifs à la surface des échantillons traités nous indique une affinité augmentée et donc une adsorption de surface plus importante. L'effet anti bactéricide des surfaces EB et N s'en trouve augmenté.

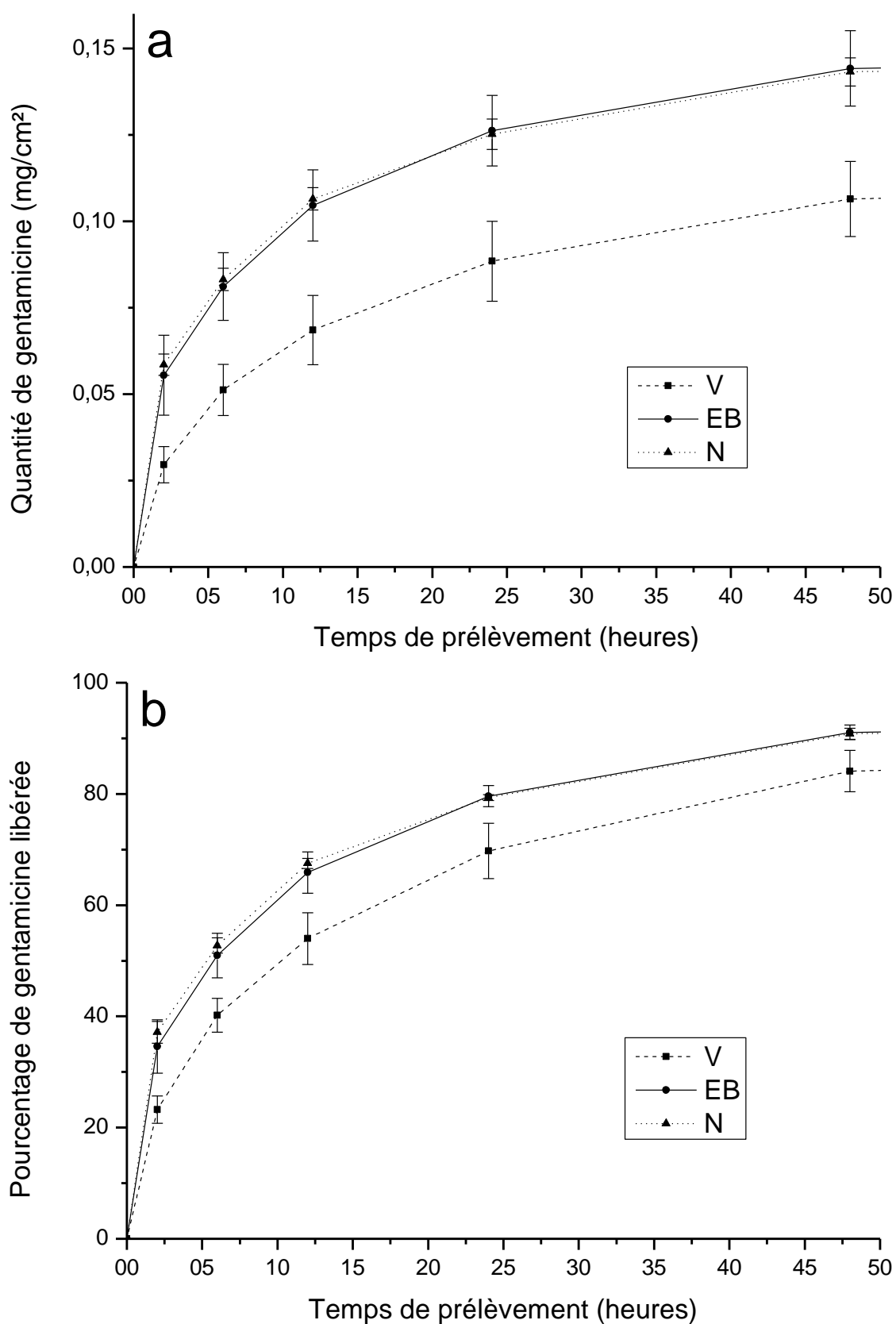


Figure 122: AntibioGrammes des profils cumulés des quantités de gentamicine libérées en mg/cm² (a) et en pourcentage (b) en fonction du temps pour des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

C. Etude microbiologique, effet bactéricide

Dans un second temps, pour la partie microbiologie, les surfaces des pastilles irradiées ou non ont été mises en contact avec ces mêmes milieux. Pour toutes les pastilles qui ont subi les prélèvements, aucun diamètre d'inhibition n'est mesurable. Leur activité anti bactérienne est donc bien nulle après 72 heures d'expériences. En revanche, les pastilles qui n'ont subi aucun prélèvement en possèdent bien un. Ceci est dû au phénomène d'équilibre évoqué précédemment. Il survient au moment où la quantité de relargage maximale dans 1 mL de PBS est atteinte. La quantité de principes actifs en solution et celle restante en surface des pastilles est stabilisé par cet équilibre. Ce phénomène implique donc que par manque de volume, le principe actif reste en surface au lieu de passer en solution.

Les pastilles vierges sans prélèvements (V) ainsi qu'irradiées sous azote (N) ne présentent pas de grandes différences entre elles (figure 123) avec un diamètre d'inhibition moyen de 10 ± 3 mm (23 – 13, 13mm étant le seuil de détection égal au diamètre des pastilles) et de 11 ± 3 mm respectivement. En revanche, pour les pastilles irradiées sous air, cette valeur augmente jusqu'à 16 ± 3 mm.

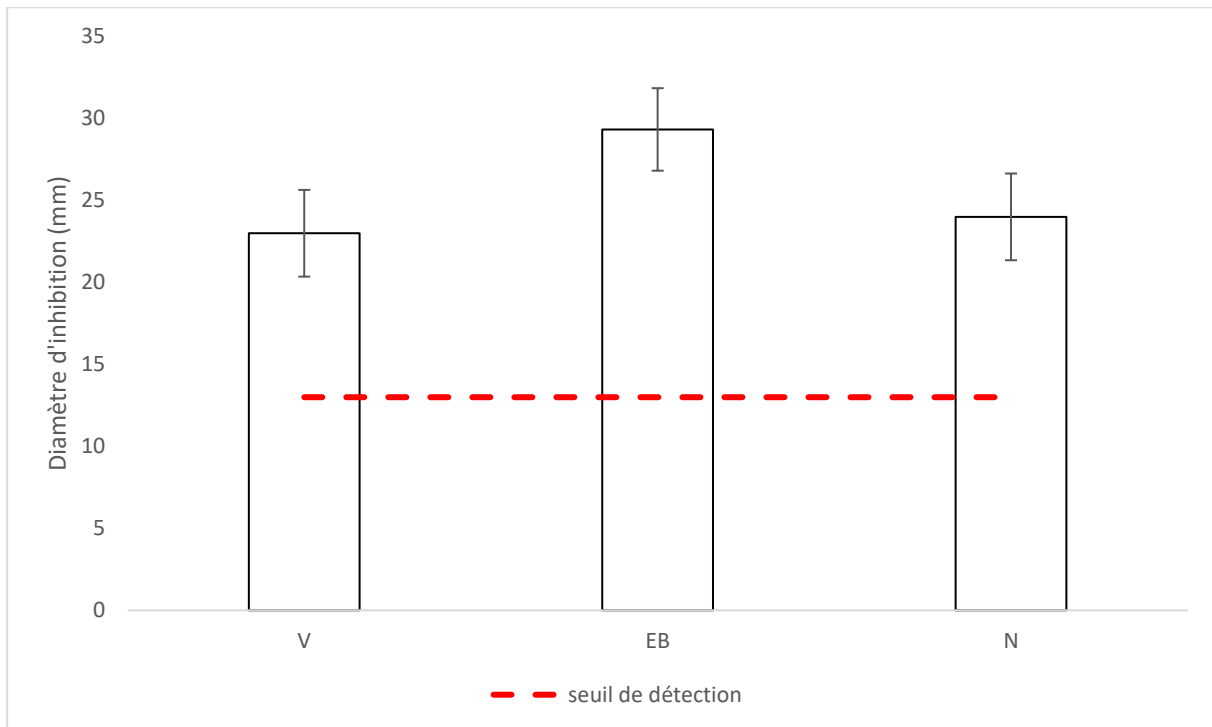


Figure 123: Antibiogramme de la moyenne ($n=3$) des diamètres d'inhibition des pastilles qui n'ont pas subi de prélèvements pour des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

Cela peut attester de l'amélioration de l'activité anti bactérienne sur les échantillons irradiés sous air (EB). Néanmoins, les mesures de diamètre d'inhibition sont influencés

par de nombreux paramètres. Certains paramètres d'expériences sont beaucoup moins contrôlables qu'une espèce de bactérie, un milieu ou une même température de prolifération. (Cooper and Linton, 1952) parmi tant d'autres, ont par exemple étudié certains de ces paramètres comme la diffusion du principe actif dans le milieu, c'est-à-dire le gradient de concentration, qui reste difficile à quantifier. Une affirmation d'activité est possible mais la supériorité d'un échantillon par un autre l'est beaucoup moins. En déduire que les surfaces EB sont supérieures aux autres en termes d'activité anti bactérienne est donc prématuré.

Si l'on s'intéresse maintenant aux différents prélèvements dans le temps, l'augmentation des diamètres d'inhibition nous révèle une augmentation de la résistance bactérienne des surfaces irradiées par rapport aux surfaces vierges. Les diamètres d'inhibition sont classés selon une charte comportant 3 états qui sont résistant, intermédiaire et susceptible (plus le diamètre d'inhibition est grand, plus l'échantillon est susceptible de stopper la prolifération des bactéries).

	Diamètre d'inhibition (mm)		
	Résistant	Intermédiaire	Susceptible
Gentamicine	≤ 12	13-14	≥15

Tableau 45: Recommandation de l'Institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI) (Rašeta et al., 2017).

Pour les premières valeurs à $t = 5$ min (figure 124), tous les échantillons attestent d'un état susceptible de stopper la prolifération des bactéries avec des valeurs de diamètres d'inhibitions moyens largement supérieur à 15mm qui sont de 20 ± 1 mm (diamètre moins seuil = $26 - 6$), 23 ± 1 mm et 27 ± 1 mm pour les prélèvements des pastilles vierges (V), irradiées sous air (EB) et irradiées sous azote (N) respectivement. Contrairement aux valeurs obtenues avec la surface des pastilles directement mises en contact du milieu de prolifération, ici ce sont les prélèvements de l'irradiation (N) qui comportent le plus grand diamètre d'inhibition. L'influence de certains paramètres difficilement quantifiables évoqués précédemment sur les diamètres d'inhibition est vérifiée. A $t = 15$ min, la valeur du diamètre d'inhibition moyen des prélèvements vierges diminue à 9 ± 2 mm, ce qui les fait donc passer en catégorie résistant. Les prélèvements irradiés sous air et sous azote quant à eux restent dans la catégorie susceptible avec 15 ± 2 mm et 18 ± 1 mm. Les valeurs de diamètres d'inhibition descendent relativement vite après 15min à cause des quantités faibles de gentamicine étudiées.

Le bombardement électronique favorise un effet bactéricide plus important pour des temps $t = 5$ min, 15min, 30min et 1h que ce soit pour une atmosphère sous air (EB) ou

sous azote (N) (voir figure 124). La figure 125 se réfère aux mêmes résultats que la figure 124 mais présentés différemment. Sous des allures de courbes, il est bien plus facile de déceler les différences d'efficacité des pastilles. La plus grande activité anti bactérienne des prélèvements des surfaces traitées EB et N est perceptible, leurs courbes sont toujours au-dessus de celles des prélèvements des surfaces (V). À partir de $t=2h$, les diamètres de prélèvements des échantillons V atteignent la valeur du seuil de détection (6mm) et ne peuvent donc plus être mesurés. Cela indique qu'ils ne présentent plus d'activité anti bactérienne. Les prélèvements des irradiations N atteignent également le seuil de détection à $t=2h$. Les meilleurs résultats sont obtenus pour les prélèvements des irradiations EB qui conduisent à l'apparition d'un diamètre d'inhibition jusqu'à $t=4h$, augmentant ainsi de trois heures son efficacité par rapport aux surfaces vierges.

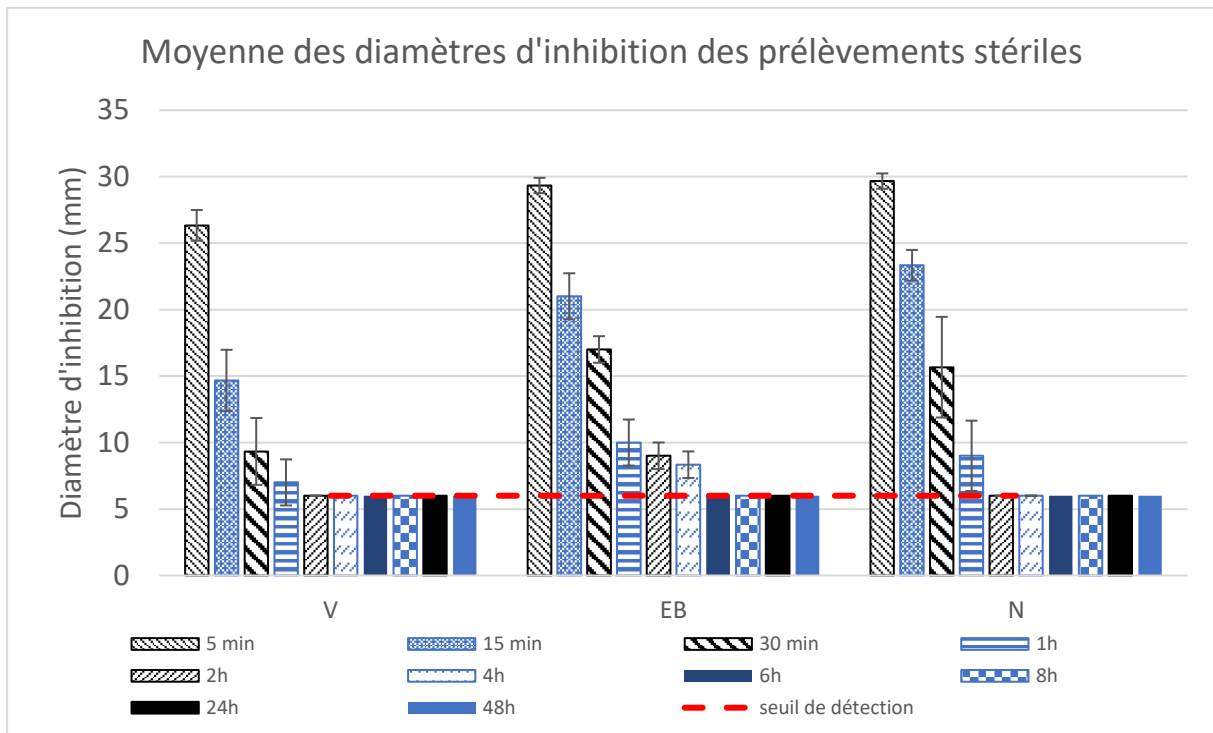


Figure 124: Antibioigrammes de la moyenne ($n=4$) des diamètres d'inhibition pour les prélèvements à différents t des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

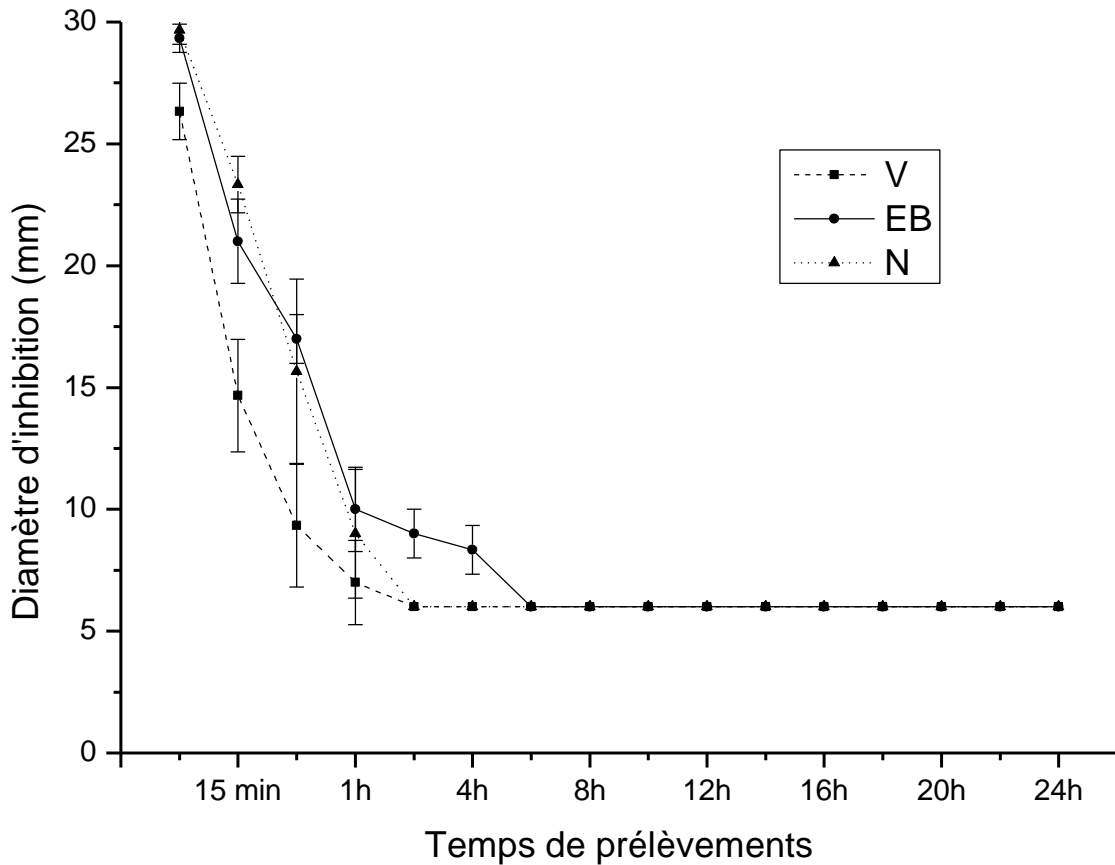


Figure 125: Antibiogramme de la moyenne ($n=4$) des diamètres d'inhibition pour les prélèvements à différents t des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

La méthode Kirby-Bauer d'inhibition nous permet de conclure sur la prédominance de l'irradiation électronique sous air pour conserver un effet bactéricide plus long dans le temps (figure 125). Les prélèvements des surfaces vierges présentent une chute rapide du diamètre d'inhibition, synonyme d'une activité anti bactérienne de moins en moins importante jusqu'à être nulle à $t=2h$. Bien que les prélèvements des surfaces N possèdent des valeurs de diamètres d'inhibition plus élevées pour chaque temps t , leur activité anti bactérienne se trouve également nulle à $t=2h$. Il est possible que l'effet bactéricide soit un peu plus persistant dans le temps avec une irradiation sous atmosphère d'azote par rapport aux échantillons vierges. Les valeurs supérieures à $t=1h$ par rapport aux surfaces vierges vont certainement permettre une libération de principes actifs un peu plus longue dans le temps. Des prélèvements intermédiaires entre $t=1h$ et $t=2h$ peuvent répondre à cette hypothèse. Les prélèvements avec les meilleurs résultats sont ceux qui concernent les surfaces (EB) avec un effet bactéricide prolongé de minimum trois heures jusqu'à $t=4h$.

D. Conciliation de l'étude biologique et de l'étude microbiologique

Il est ici question de confronter les résultats des expériences des deux études précédentes que sont le dosage UV du principe actif et la méthode Kirby-Bauer d'inhibition. La première permet d'obtenir des valeurs mesurées alors que la seconde permet seulement de conclure à l'efficacité du principe actif ou non. Elles sont faites en parallèle afin de s'assurer que leurs informations respectives se recoupent. Cela permet de donner plus de légitimité aux résultats. La méthode Kirby-Bauer est visuelle par la présence ou non d'une zone de non-prolifération des bactéries autour du prélèvement. On favorise donc ses résultats pour en tirer des conclusions sur ceux du dosage.

Pour ce faire, la figure 126 regroupe un histogramme de chaque étude menée précédemment. Leur superposition permet de tirer des informations importantes. Il est observé une même allure dans les premiers temps $t = 5\text{min}$, $t=15\text{min}$, $t=30\text{min}$ et $t=1\text{h}$. Les quantités de principes actifs libérées sont élevées à des temps de prélèvements faibles. Cela se traduit par des diamètres d'inhibition élevés dans ces temps. Au fur et à mesure des prélèvements, les quantités mesurées ainsi que les diamètres d'inhibition diminuent progressivement. A partir de $t=2\text{h}$, la corrélation devient moins évidente. Il est dosé en UV des quantités de gentamicine proches du prélèvement précédent néanmoins, aucun diamètre d'inhibition n'est mesurable pour ces mêmes temps. Les prélèvements de chaque surface comportent une quantité de principes actifs qui était significative jusque-là. Ce n'est plus le cas à $t=2\text{h}$ comme nous l'indique la non-activité antibactérienne de V et N (histogramme rouge). Cette constatation n'est pas valable pour les prélèvements EB, une activité antibactérienne est relevée jusqu'à $t=4\text{h}$ alors même que les quantités de gentamicine dosées sont très faibles. On peut juger la véracité du seuil de détection du dosage UV à ces instants. La limite de détection de la concentration efficace est atteinte pour un temps de prélèvement de deux heures. La précision du dosage en UV devient moindre et l'évaluation du relargage du principe actif n'est possible qu'à l'aide de la méthode de Kirby-Bauer. Il est donc question de libérations significatives de gentamicine jusqu'à $t=2\text{h}$ en dosage UV qui se réduisent à une heure pour les prélèvements des surfaces V et N avec les mesures de

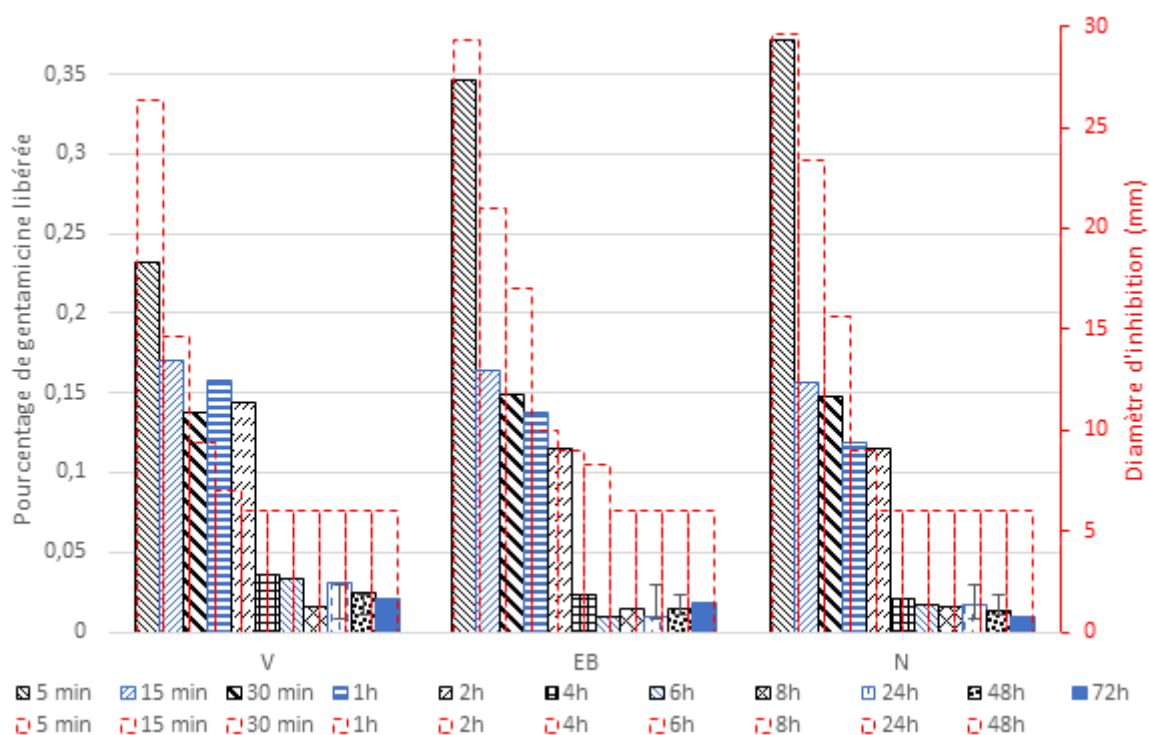


Figure 126: AntibioGrammes superposés des diamètres d'inhibition en mm (tiret rouge) et du pourcentage de gentamicine libérée des prélèvements stériles pour les pastilles vierges (V), irradiées sous air (EB) et irradiées sous azote (N) (dose de 640 kGy).

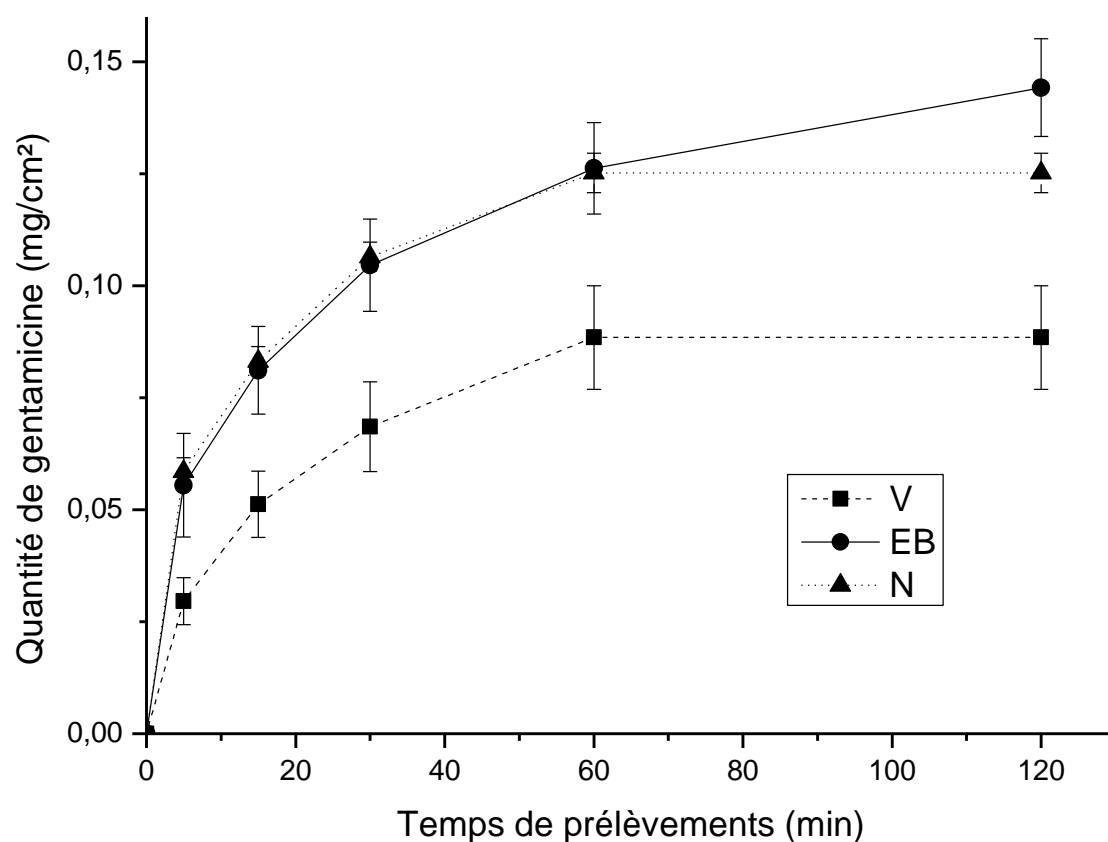


Figure 127: AntibioGrammes des profils cumulés des quantités de gentamicine libérées en mg/cm² en fonction du temps (jusqu'à t=2h) pour des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).

diamètres d'inhibitions. Les quantités dosées par la suite peuvent donc être écartées des résultats car ces valeurs ne sont pas significatives. Pour les surfaces EB, les valeurs à $t=2h$ sont prises en compte car un diamètre d'inhibition est toujours observable. La mise en commun des résultats et la nouvelle représentation (figure 127) de l'antibiogramme de la figure 122,a mettent en lumière une libération de principes actifs plus longue dans le temps pour les échantillons EB. Une différence entre les courbes EB et N est donc visible après le prélèvement d'une heure. Les surfaces irradiées sous air (EB) prolongent l'activité antibactérienne par un relargage un peu plus long de gentamicine.

Si l'on se réfère aux valeurs d'angles initiales (tableau 28), on peut établir un lien entre l'adsorption de gentamicine et l'hydrophilie de surface.

Comme expliqué précédemment d'après Aronov, les interactions entre les électrons de l'irradiation et de la surface traitée conduisent à la création de lacunes après ionisation. Il s'en suit une réorganisation des électrons du nuage électronique qui place les éléments dans un état excité. C'est ce phénomène qui va induire une charge de surface plus négative qu'à l'état initial (Aronov et al., 2007a). Il n'est donc pas surprenant qu'une molécule chargée positivement comme la gentamicine voit son adsorption dynamisée car plus on se rapproche d'un état de surface superhydrophile ($\theta < 10^\circ$) et plus l'énergie de surface augmente (de Gennes, 1985). Avec des valeurs d'angles initiales plus faibles pour les surfaces EB par rapport aux surfaces N (respectivement $19\pm 4^\circ$ et $30\pm 4^\circ$), on aurait pu s'attendre à des quantités totales adsorbées plus importantes. Ce n'est pas le cas comme nous l'a indiqué la figure 119. Les surfaces n'ont potentiellement plus la possibilité d'interagir avec le milieu extérieur et ont donc atteint leur limite d'adsorption.

Si l'on se remémore les allures des courbes d'évolution des mesures d'angles de goutte dans le temps pour ces irradiations (figure 88), il peut être trouvé un lien entre la perte de la charge de surface et le relargage de la gentamicine. Une forte augmentation des valeurs d'angles de goutte dans les premiers temps peut être caractéristique de la forte vitesse de libération de gentamicine dès les premiers temps de prélèvements. Une combinaison de deux paramètres comme une forte hydrophilie de surface ainsi qu'une évolution lente et continue des valeurs d'angles de goutte dans le temps pourraient respectivement augmenter la quantité de principes actifs en surface et conduire à une libération continue et plus durable dans le temps.

Si ces phénomènes de charges (les charges de surface des pastilles négatives après traitement électronique interagissent avec les charges positives des molécules de gentamicine) peuvent expliquer les différences d'adsorption entre les surfaces irradiées et les surfaces vierges, d'autres paramètres de surface sont à prendre en compte si l'on veut apporter des éléments de réponses pour les surfaces EB et N. Ils sont en lien direct avec les précédents résultats de caractérisation par MEB. La topographie et la morphologie des surfaces jouent un rôle important. Toutes les surfaces étudiées durant ce travail sont accidentées, elles présentent des crevasses microscopiques engendrées par polissage lors de leur préparation. Il intervient une différence de topographie pour les surfaces irradiées sous air (EB) par rapport à celles irradiées sous azote (N₂) qui ont fait l'objet de discussions dans le chapitre III. Ces modifications ne sont pas homogènes sur toute la surface des pastilles EB mais interviennent sur la moitié de celles-ci. Elles ont pu être caractérisées uniquement par MEB couplé à un EDX. La transformation de la morphologie des grains sphériques à une morphologie en aiguilles implique un changement local de rugosité. Ce changement peut amener le principe actif à s'adsorber en plus grande quantité dans ces zones en modifiant la surface spécifique du matériau. Cette grandeur caractérise la surface réelle d'un matériau en fonction de sa masse. Contrairement à la surface apparente, la surface réelle prend en compte la porosité et les aspérités du solide. Elle est donc exprimée en fonction du volume du matériau. Dans notre cas, la porosité n'est pas à prendre en compte car les pastilles frittées sont denses à 98%. Si l'on regarde l'image B6 de la figure 89, les aiguilles d'HA formées apportent une nouvelle dimension à la surface. Certaines aiguilles forment des espacements entre elles quand d'autres se superposent, ce qui peut contribuer à une augmentation de la surface réelle et la surface spécifique par extension. De nombreux travaux montrent que l'augmentation de la surface spécifique d'un matériau augmente ses capacités à adsorber et libérer plus longtemps un principe actif comme Liu et al. sur un ciment osseux bioactif de silicate tricalcique (Liu and Chang, 2009). Des valeurs de surface spécifiques ne peuvent pas être mesurées directement sur les échantillons à cause de leur taille qui ne leur permet pas d'entrer dans le dispositif. Des valeurs sur la poudre ne seraient quant à elles pas représentatives de la surface. La libération plus longue de gentamicine pour les pastilles EB peut résulter d'une libération tardive dans ces zones. Un tel changement de rugosité, qu'il soit micrométrique ou nanométrique peut

favoriser des interactions avec les ostéoblastes et conduire à une régénération osseuse sur le matériau ou le dépôt implanté (Webster et al., 2003).

La morphologie de surface dans ces zones peut également contribuer à cet effet bénéfique observé. Les molécules chargées négativement comme le ASB s'adsorbent en surface d'HA par interactions entre ses groupements carboxyliques et les ions calcium de la surface (Wassell et al., 1995). Or les analyses EDX ont indiquées une présence plus faible de calcium et une augmentation du phosphore dans ces zones. La présence de groupements PO_4^{3-} en surface est donc renforcée, ce qui favoriserait une nouvelle fois l'adsorption de gentamicine par interaction avec ses groupements CH_3 et NH_2 .

Une étude sur la capacité d'adsorption de gentamicine de pastilles d'HA microporeuses a été réalisée précédemment. La poudre d'HA utilisée est synthétisée de la même façon que celle pour les pastilles de cette thèse. Cependant, il était étudié l'impact d'une porosité induite pendant le frittage. Il avait été observé une quantité de gentamicine adsorbée supérieure pour les pastilles poreuses, le principe actif pouvant s'adsorber dans les pores (Chai et al., 2007). Les quantités ne sont pas comparables avec notre étude car dans notre cas, il n'est question que d'adsorption sur la surface apparente des pastilles qui est égale à sa surface réelle (densité des pastilles à 98%). Il a été montré par cette étude in vitro plusieurs résultats intéressants sur l'apport d'une irradiation de surface par bombardement électronique. Tout d'abord la capacité d'adsorption d'un principe actif, la gentamicine, est améliorée. De plus grandes quantités sont mesurées en surface des pastilles traitées. De ce fait, une libération plus importante à une vitesse plus élevée dans les premiers temps de prélèvements (jusqu'à $t=2h$) a pu être observée. Cette irradiation apporte donc un effet anti bactéricide aux surfaces avec de meilleurs résultats obtenus après irradiation électronique en comparaison avec des surfaces vierges. Ces résultats sont plus significatifs pour des irradiations sous air. Quelques éléments de réponse ont fait l'objet de discussions. Les zones modifiées observées en MEB/EDX sur les pastilles EB pourraient en être la cause. Une augmentation de surface réelle et une composition chimique favorable seraient à l'origine d'une plus forte affinité avec le principe actif. Ceci conduisant à augmenter son adsorption en surface et prolonger son temps de relargage. Ce principe actif est couramment utilisé pour l'implantation par trempage (Friberg et al., 2009) car il augmente la résistance aux infections osseuses des implants en luttant contre les micro-organismes qui en sont responsable. La réalisation d'une

modification de surface par bombardement électronique peut donc être facilement faite sur un implant d'HA (ou sur les dépôts d'HA présents sur les implants) avant son immersion dans une solution de gentamicine pour en augmenter l'adsorption.

Conclusions générales et perspectives

Le but principal de cette thèse portait sur la modification de la surface de céramique biocompatible, l'hydroxyapatite. Il a été étudié l'impact de trois méthodes différentes de traitement de surface que sont l'irradiation électronique, l'irradiation UV et le traitement par plasma froid. Pour pouvoir déterminer d'éventuelles modifications entre les états vierges et traités, une bonne connaissance du matériau de départ était donc nécessaire.

Le premier objectif a donc été l'établissement d'un protocole de préparation des surfaces vierges par polissage et de leur stockage pour une reproductibilité entre échantillons que ce soit d'un point de vue chimique ou structural. Le second objectif a été la caractérisation physico-chimique des surfaces vierges pour en connaître leurs propriétés de surface (rugosité, éléments chimiques présents). Le troisième objectif consistait à réaliser des traitements de surfaces (irradiation électronique, irradiation UV et traitement par plasma froid) dans le but d'obtenir une modification de l'hydrophilie des surfaces. Les temps de traitements sont rapides (suivant les machines utilisées) pour minimiser la pollution de surface ayant lieu à l'air libre. La durée de l'hydrophilie induite est également prise en compte. Le quatrième objectif était de réaliser la même caractérisation physico-chimique que les surfaces vierges sur des surfaces irradiées pour autoriser la comparaison des résultats entre ces deux états. Ceci permettrait d'évaluer l'impact des traitements en établissant les différences morphologiques et structurales entre les surfaces vierges et irradiées. En ce qui concerne le dernier objectif, il s'agissait de mettre en évidence le traitement le plus avantageux (hydrophilie de surface accrue) pour des applications dans le domaine biomédical. Dans notre cas, il est question d'effet anti bactéricide des surfaces.

Le premier objectif d'élaboration d'un protocole de préparation et de stockage est atteint. Cela s'est réparti en plusieurs étapes avec des échantillons ne provenant pas du même lot de poudre de départ, ce qui a engendré des différences de phase entre les lots. Dans l'attente des céramiques confectionnées pour ce travail, d'anciens échantillons ont permis de choisir certaines conditions de travail. Le suivi de la mouillabilité de surface dans le temps a révélé de meilleures conditions de reproductibilité pour un polissage avec des disques à une taille de grains de 4 μm . Aucune méthode de polissage spécifique ne conduit à de meilleurs résultats. Le polissage sans bouger est donc adopté pour ne pas augmenter inutilement le temps

de préparation des échantillons. Après un certain nombre de mesures consécutives d'angles de goutte, une tendance à la stabilisation des valeurs est observable dans un intervalle de [55°-70°] pour tous les échantillons. Une augmentation voulue de la rugosité de surface a démontré que celle-ci n'était pas le facteur impactant la reproductibilité des mesures d'angles de goutte entre échantillon. Le polissage grossier (grains de 200 μm) conduit à des différences de valeurs d'angles comme des valeurs de stabilisation plus faibles ; ceci étant du principalement à la diminution des valeurs d'angles de goutte initiales qu'il a également provoqué. Une évolution similaire dans le temps est en revanche observée avec une augmentation progressive des valeurs d'angles de goutte. Ce point important est la réalisation d'un protocole précis qui permet l'obtention d'une rugosité de surface identique entre les échantillons. Le plus grand problème rencontré a été l'absence de reproductibilité des valeurs d'angles de goutte initiales entre les différentes surfaces d'HA. La remise en question du protocole de stockage en étuve a permis d'en déterminer un nouveau. Pour ce faire, l'utilisation de lames de verre de microscope comme référence a montré la supériorité d'un nettoyage des surfaces par du THF et du stockage en dessiccateur sous vide. Ceci rend les valeurs initiales d'angles de goutte très reproductible entre chaque échantillon et l'obtention d'une évolution des valeurs dans le temps comme référence pour les surfaces vierges.

La caractérisation physico-chimique des surfaces vierges a rencontré quelques complications par rapport à l'élaboration des échantillons. La détermination fine des états de surfaces physico-chimiques est obtenue à l'aide de l'utilisation de goniomètres, de la profilométrie, de la spectroscopie Infrarouge, de la spectroscopie Raman, de la diffraction des rayons X, de la microscopie électronique à balayage, de la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie, de la spectrométrie de masse des ions secondaires à temps de vol et de la spectroscopie photoélectronique à rayons X. Une différence de structure cristalline entre les échantillons a été mis en lumière par DRX, ils ne sont pas uniquement constitués d'HA. Plusieurs autres phases non identifiables avec précision sont présentes. Leur utilisation pour les comparaisons futures après irradiations n'est donc pas envisageable, les résultats pouvant être influencés par ces différences. Un état de surface dit accidenté est observé par microscopie électronique à balayage induit par le polissage des surfaces. La précision du profilomètre n'est pas assez importante pour mesurer cette rugosité.

Le premier lot de pastilles composées de HAG1 à HAG14 est plus homogène dans les phases qui le constituent par rapport aux anciennes pastilles. La DRX ainsi que les analyses Raman nous informent de la présence minoritaire de phase β -TCP dans la majorité des échantillons en plus de la phase d'HA. Celle-ci est majoritairement présente en surface mais ne disparaît pas en profondeur du matériau. Les résultats de suivi de mouillabilité sur ce lot nous informent de l'impact que peut avoir la présence de la phase β -TCP. La stabilisation aux valeurs plateaux se fait à des angles plus élevés. Cet autre facteur variant vient donc s'ajouter au problème des surfaces initiales. Il a donc été fabriqué un même lot en grande quantité (lot 2 à partir de HAG15) pour corriger ces problèmes d'homogénéité afin de pouvoir mener des études à partir d'une référence constante entre les échantillons. Les analyses physico-chimiques conduites sur le lot 2 nous ont renseignés une nouvelle fois sur la présence d'un faible pourcentage de phase β -TCP dans tous les échantillons. Ceci est la conclusion du regroupement des résultats DRX et Raman. La présence de cette phase est décelée à la surface comme en profondeur du matériau. En soit, ceci n'est pas un problème puisque comme vu dans la littérature, le β -TCP est également biocompatible et des céramiques biphasiques de ce type font également l'objet de recherches. Les mêmes études de rugosité que sur les anciens échantillons (Ech et HA) ont confirmé le non-intérêt pour des méthodes de polissage autre que « sans bouger ». Une taille de grains des disques de polissage de 4 μm , qui a été le plus probant, est adoptée pour une reproductibilité maximale entre deux mesures.

Après la réalisation des traitements de surfaces sur les échantillons conditionnés, l'hydrophilie des différentes surfaces obtenues est évaluée. En ce qui concerne le dispositif industriel pour l'irradiation UV, il permettait d'observer une augmentation de l'hydrophilie après une seule irradiation dans des conditions de stockage en étuve. Ceci n'est plus le cas pour le nouveau mode de stockage en dessiccateur même après quatre irradiations successives. Ce nouveau protocole de préparation des surfaces a entraîné une surface initiale plus hydrophile et donc un impact significatif de l'irradiation ne peut plus être observé dans ces conditions expérimentales. Aucun changement structural ou morphologique n'a été constaté par les analyses physico-chimiques. Pour l'irradiation par plasma froid, l'hydrophilie des surfaces a été augmentée. Il est cependant à noter que son effet est très court dans le temps pour les conditions étudiées (disparition après quinze minutes). Les charges de surfaces induites par cette irradiation sont rapidement compensées. Enfin

l'irradiation électronique s'est montrée la plus prometteuse dans ces conditions expérimentales. Dans toutes les conditions expérimentales de la machine qui ont fait l'objet d'essais, les irradiations réalisées sous air ont été plus enclines à induire une hydrophilie de surface accrue des céramiques. Une contribution des atomes d'oxygène en serait la cause (Chap IV A 3).

La même caractérisation physico-chimique que les surfaces vierges sur les surfaces irradiées est conduite, ce qui a permis d'évaluer l'impact des traitements en établissant des différences entre les surfaces vierges et irradiées. Aucune modification morphologique ou structurale n'a été obtenue par les différentes techniques d'analyses des matériaux pour les irradiations UV. Seule une pollution de surface induite par le dispositif de traitement est recensée pour les traitements par plasma froid. Pour ce qui est de l'irradiation électronique, l'étude de différentes doses d'irradiations comprenant les conditions extrêmes de la machine n'ont engendré aucune modification sur la surface des céramiques. Une irradiation dans des conditions spécifiques a concentré notre attention. En effet à une dose 640 kGy, il a été obtenu une modification chimique et structurale de grains en surface dans certaines zones. Un passage de la forme de grains à des aiguilles n'est pas uniforme sur la globalité de la surface. Un paramètre qui serait susceptible d'influencer ce phénomène est la pénétration uniforme de la dose en profondeur du matériau. Dans ces conditions expérimentales, elle est réduite à 10 µm contre 20 µm pour les autres. La réaction de la surface au traitement n'est pas identique dans ces zones comparées au reste de la surface. Une modification chimique est également notée par XPS caractéristique d'une pollution de surface par CaCO_3 . Ceci ne semble pas être la cause des modifications structurales puisqu'elle est également notée pour l'irradiation sous azote.

En ce qui concerne le dernier objectif, il s'agissait de mettre en évidence l'impact du traitement le plus avantageux (hydrophilie de surface accrue) pour des applications dans le domaine biomédical. Dans notre cas, il est question d'effet anti bactéricide des surfaces.

Le dispositif Comet Ebeam (irradiation électronique) est le plus avantageux des trois traitements de surface utilisés. Il a montré sa capacité à induire une hydrophilie accrue aux surfaces traitées. Les modifications de grains en surface citées précédemment peuvent jouer un rôle intéressant au niveau des interactions en biologie. C'est pourquoi ces conditions d'irradiations ont été choisies pour les études in vitro. Plusieurs résultats intéressants obtenus montrent un effet bénéfique des

irradiations électroniques sur les surfaces de céramiques. La capacité d'adsorption d'un principe actif, la gentamicine, en surface des échantillons traités s'en trouve améliorée. Et ce dans les deux cas d'atmosphère réactionnelle (sous air ou sous azote). Cette amélioration mène à d'autres effets bénéfiques qui sont l'augmentation de la quantité et de la vitesse de libération du principe actif. Un effet anti bactéricide de l'irradiation est mis en avant, qui serait plus durable pour les irradiations réalisées sous air. Ces phénomènes peuvent être mis en lien avec les études de mouillabilité effectuées dans ce travail. La perte rapide de charges de surface observée sur les évolutions des mesures d'angles de goutte dans le temps conduit à une désorption rapide de la gentamicine. Un relargage plus long dans le temps pour les surfaces traitées sous air pourrait venir des zones modifiées observées en MEB/EDX. L'augmentation de la surface réelle par modification des grains de surface permettrait une adsorption plus abondante. La différence de composition chimique pourrait également favoriser des affinités avec le principe actif.

Dans le but d'apporter des résultats complémentaires, plusieurs pistes peuvent être étudiées. En ce qui concerne la méthode de l'angle de contact pour la détermination des évolutions des mesures d'angles au cours du temps, une configuration dans des conditions immergées seraient plus avantageuses pour éliminer les phénomènes incohérents entre deux valeurs. Il s'agit de la méthode de la bulle captive où l'échantillon est immergé dans la solution. Il est alors créé une bulle d'air sous la surface qui va être mise en contact avec cette dernière pour une mesure d'angle. Les surfaces seraient alors constamment immergées, ce qui pourrait peut-être éviter les interactions avec l'air et la contamination des surfaces. Un meilleur suivi de valeur d'angles pourrait être un résultat attendu.

Afin de pouvoir aboutir à des tests in vitro, les conditions d'irradiations par plasma froid et irradiation UV doivent faire l'objet de nouvelles expérimentations. Il peut être envisagé un passage en mode statique sous la source UV pour définir des temps d'irradiations plus longs. Ceci entraînerait un ajustement de la puissance de la lampe qui ne peut pas émettre trop longtemps à pleine puissance. La piste d'une combinaison avec l'irradiation électronique peut également être étudiée. Il serait alors un pré-traitement de surface qui favoriserait l'impact du second traitement. Des temps plus longs d'irradiations par plasma froid ou encore leurs réalisations sous une atmosphère réactionnelle incluant de l'oxygène pourraient faire persister son influence dans le temps ; ce qui le rendrait plus apte à être utilisé par la suite.

Pour les irradiations électroniques dans les conditions étudiées, une étude in vitro sur les surfaces irradiées à une dose de 460 kGy serait utile pour comparer avec celles réalisées à 640 kGy. Elle pourrait permettre de renforcer nos conclusions quant à l'influence des zones modifiées et les charges de surfaces. De moins bons résultats in vitro à une dose de 460 kGy impliqueraient une participation des zones modifiées sur l'adsorption de gentamicine en surface des échantillons.

En ce qui concerne d'autres conditions d'irradiations électroniques, il serait judicieux d'étudier l'influence de plusieurs irradiations consécutives. Cela permettrait l'obtention de surfaces superhydrophiles ($\theta < 10^\circ$) avec une charge de surface élevée et de déterminer les quantités maximales de principes actifs que l'on peut adsorber en surfaces des céramiques.

Une application directe de ce traitement dans le domaine biomédical serait la combinaison des irradiations EB avec de l'HA poreuse. Qu'elle soit sous la forme de matériau ou de poudre, une augmentation de l'affinité de la surface des pores grâce à une irradiation pourrait considérablement augmenter le stockage de principes actifs. Une autre piste exploitable serait pour l'incorporation d'un implant. La facilité d'utilisation, le temps d'irradiation très court (une seconde) ainsi que l'absence du vide comme condition de travail contraignante font que le dispositif Comet Ebeam pourrait facilement s'incorporer dans une chaîne de production ou dans un protocole d'élaboration en étant tout simplement une étape supplémentaire. L'irradiation pourrait être facilement effectuée avant la réalisation du trempage dans le principe actif (étape qui précède l'incorporation de l'implant dans son emplacement définitif). Cela permettrait l'amélioration des conditions d'implantations par diminution des infections. Des études de formations osseuses pourraient être instructives pour une meilleure incorporation des implants. Les surfaces hydrophiles sont connues pour avoir de bonnes interactions avec les ostéoblastes qui favorisent la croissance des os aux jonctions. Des tests plus spécifiques avec des solutions salivaires nous informeraient sur la capacité de ces irradiations à réduire les infections d'un implant dentaire

Références

- Adler-Abramovich, L., Aronov, D., Gazit, E., Rosenman, G., 2009. Patterned Arrays of Ordered Peptide Nanostructures. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 9, 1701–1708.
- Alcaide, M., Serrano, M.C., Pagani, R., Sánchez-Salcedo, S., Nieto, A., Vallet-Regí, M., Portolés, M.T., 2009. L929 fibroblast and Saos-2 osteoblast response to hydroxyapatite- β TCP/agarose biomaterial. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 89A, 539–549.
- Annarelli, C.C., Fornazero, J., Cohen, R., Bert, J., Besse, J.-L., 1999. Colloidal Protein Solutions as a New Standard Sensor for Adhesive Wettability Measurements. *Journal of Colloid and Interface Science* 213, 386–394.
- Aronov, D., Chaikina, M., Haddad, J., Karlov, A., Mezinskis, G., Oster, L., Pavlovskaya, I., Rosenman, G., 2007a. Electronic states spectroscopy of Hydroxyapatite ceramics. *J. Mater. Sci.-Mater. Med.* 18, 865–870.
- Aronov, D., Karlov, A., Rosenman, G., 2007b. Hydroxyapatite nanoceramics: Basic physical properties and biointerface modification. *Journal of the European Ceramic Society, Refereed Reports ELECTROCERAMICS X 2006* 27, 4181–4186.
- Aronov, D., Molotskii, M., Rosenman, G., 2007c. Electron-induced wettability modification. *Phys. Rev. B* 76, 035437.
- Aronov, D., Rosen, R., Ron, E.Z., Rosenman, G., 2006. Tunable hydroxyapatite wettability: Effect on adhesion of biological molecules. *Process Biochemistry* 41, 2367–2372.
- Aronov, D., Rosen, R., Ron, E.Z., Rosenman, G., 2008. Electron-induced surface modification of hydroxyapatite-coated implant. *Surface and Coatings Technology* 202, 2093–2102.
- Bain, C.D., 1989. Modeling Organic Surfaces with Self-Assembled Monolayers. *Angewandte Chemie* 101, 522–528.
- Barralet, J., Akao, M., Aoki, H., Aoki, H., 2000. Dissolution of dense carbonate apatite subcutaneously implanted in Wistar rats. *Journal of Biomedical Materials Research* 49, 176–182.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., 1997. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta* 202, 1–8.
- Battiston, E., Salvatici, M.C., Lavacchi, A., Gatti, A., Di Marco, S., Mugnai, L., 2018. Functionalization of a nanostructured hydroxyapatite with Cu(II) compounds as a pesticide: in situ transmission electron microscopy and environmental scanning electron microscopy observations of treated *Vitis vinifera* L. leaves - Battiston - 2018 - Pest Management Science - Wiley Online Library [WWW Document]. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.4892> (accessed 11.24.20).
- Bichai, F., Barbeau, B., Payment, P., 2009. Protection against UV disinfection of *E. coli* bacteria and *B. subtilis* spores ingested by *C. elegans* nematodes. *Water Research* 43, 3397–3406.
- Boisson, J., Ruttens, A., Mench, M., Vangronsveld, J., 1999. Evaluation of hydroxyapatite as a metal immobilizing soil additive for the remediation of polluted soils. Part 1. Influence of hydroxyapatite on metal exchangeability in soil, plant growth and plant metal accumulation. *Environmental Pollution* 104, 225–233.

-
- Bowers, K.T., Keller, J.C., Randolph, B.A., Wick, D.G., Michaels, C.M., 1993. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. *Implant Dentistry* 2, 131.
- Brès, E.F., Hutchison, J.L., Senger, B., Voegel, J.-C., Frank, R.M., 1991. HREM study of irradiation damage in human dental enamel crystals. *Ultramicroscopy* 35, 305–322.
- Cartmell, S.H., Thurstan, S., Gittings, J.P., Griffiths, S., Bowen, C.R., Turner, I.G., 2014. Polarization of porous hydroxyapatite scaffolds: Influence on osteoblast cell proliferation and extracellular matrix production. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 102, 1047–1052.
- Cassie, A.B.D., Baxter, S., 1944. Wettability of porous surfaces. *Trans. Faraday Soc.* 40, 546–551.
- Chai, F., Hornez, J.-C., Blanchemain, N., Neut, C., Descamps, M., Hildebrand, H.F., 2007. Antibacterial activation of hydroxyapatite (HA) with controlled porosity by different antibiotics. *Biomolecular Engineering, Proceedings on Symposium J Surface Functionalization of Biomaterials* 24, 510–514.
- Chal, R., Bruin-Buisson, D., Chevanier, Y., 2007. Analyse au Microscope Électronique à Balayage (MEB) http://cristallographie.free.fr/?title=Analyse_au_Microscope_%C3%89lectronique_%C3%A0_Balayage_%28MEB%29.
- Chang, C.-W., Li, S.-Y., Huang, S.-H., Huang, C.-K., Chen, Y.-Y., Chen, C.-C., 2013. Effects of ultraviolet germicidal irradiation and swirling motion on airborne *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* under various relative humidities. *Indoor Air* 23, 74–84.
- Chen, L., Xie, M., Bi, Y., Wang, G., Deng, S., Liu, Y., 2012. The combined effects of UV-B radiation and herbicides on photosynthesis, antioxidant enzymes and DNA damage in two bloom-forming cyanobacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 224–230.
- Choudhury, P., 2011. Sol–gel derived hydroxyapatite coatings on titanium substrates. *Surface and Coatings Technology* 206, 360–365.
- Chusuei, C.C., Goodman, D.W., Van Stipdonk, M.J., Justes, D.R., Schweikert, E.A., 1999. Calcium Phosphate Phase Identification Using XPS and Time-of-Flight Cluster SIMS. *Anal. Chem.* 71, 149–153.
- Cooper, K.E., Linton, A.H., 1952. The Importance of the Temperature during the Early Hours of Incubation of Agar Plates in Assays. *Microbiology*, 7, 8–17.
- Costa, L., Luda, M.P., Trossarelli, L., Brach del Prever, E.M., Crova, M., Gallinaro, P., 1998. Oxidation in orthopaedic UHMWPE sterilized by gamma-radiation and ethylene oxide. *Biomaterials* 19, 659–668.
- da Silva, O.G., da Silva Filho, E.C., da Fonseca, M.G., Arakaki, L.N.H., Airoidi, C., 2006. Hydroxyapatite organofunctionalized with silylating agents to heavy cation removal. *Journal of Colloid and Interface Science* 302, 485–491.
- Daculsi, G., Laboux, O., Malard, O., Weiss, P., 2003. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 14, 195–200.
- Dasgupta, S., Banerjee, S.S., Bandyopadhyay, A., Bose, S., 2010. Zn- and Mg-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles for Controlled Release of Protein. *Langmuir* 26, 4958–4964.
- de Gennes, P.G., 1985. Wetting: statics and dynamics. *Rev. Mod. Phys.* 57, 827–863.

-
- Destainville, A., Champion, E., Bernache-Assollant, D., Laborde, E., 2003. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate. *Materials Chemistry and Physics* 80, 269–277.
- Diawara, J., 2011. Mouillabilité de surfaces hétérogènes (fer/oxyde) par un alliage de zinc liquide (phdthesis). Ecole Centrale Paris.
- Dorozhkin, S.V., 2010. Calcium Orthophosphates as Bioceramics: State of the Art. *Journal of Functional Biomaterials* 1, 22–107.
- Dorozhkin, S.V., Epple, M., 2002. Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates. *Angewandte Chemie International Edition* 41, 3130–3146.
- Eddisford, P., Brown, A., Brydson, R., 2008. Identifying and quantifying the mechanism of electron beam induced damage and recovery in hydroxyapatite. *J. Phys.: Conf. Ser.* 126, 012008.
- Fang, Z., Qiu, Y., Kuffel, E., 2004. Formation of hydrophobic coating on glass surface using atmospheric pressure non-thermal plasma in ambient air. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 37, 2261–2266.
- Fernández, T., Olave, G., Valencia, C.H., Arce, S., Quinn, J.M.W., Thouas, G.A., Chen, Q.-Z., 2014. Effects of Calcium Phosphate/Chitosan Composite on Bone Healing in Rats: Calcium Phosphate Induces Osteon Formation. *Tissue Engineering Part A* 20, 1948–1960.
- França, R., Samani, T.D., Bayade, G., Yahia, L., Sacher, E., 2014. Nanoscale surface characterization of biphasic calcium phosphate, with comparisons to calcium hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate bioceramics. *Journal of Colloid and Interface Science* 420, 182–188.
- Friberg, O., Dahlin, L.-G., Källman, J., Kihlström, E., Söderquist, B., Svedjeholm, R., 2009. Collagen-gentamicin implant for prevention of sternal wound infection; long-term follow-up of effectiveness. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 9, 454–458.
- Gerin, P., Dengis, P., Rouxhet, P., 1995. Performance of Xps Analysis of Model Biochemical-Compounds. *J. Chim. Phys.-Chim. Biol.* 92, 1043–1065.
- Ghantani, V.C., Lomate, S.T., Dongare, M.K., Umbarkar, S.B., 2013. Catalytic dehydration of lactic acid to acrylic acid using calcium hydroxyapatite catalysts. *Green Chem.* 15, 1211–1217.
- Girija, E.K., Parthiban, S.P., Suganthi, R.V., Elayaraja, K., Joshy, M.I.A., Vani, R., Kularia, P., Asokan, K., Kanjilal, D., Yokogawa, Y., Narayana Kalkura, S., 2008. High energy irradiation - a tool for enhancing the bioactivity of Hydroxyapatite.
- Gould, P., 2003. Smart, clean surfaces. *Materials Today* 6, 44–48.
- Grill, A., 1994. Cold Plasma in Materials Fabrication: From fundamentals to applications.
- Größner-Schreiber, B., Griepentrog, M., Haustein, I., Müller, W.-D., Briedigkeit, H., Göbel, U.B., Lange, K.-P., 2001. Plaque formation on surface modified dental implants. *Clinical Oral Implants Research* 12, 543–551.
- Hallab, N.J., Mikecz, K., Vermes, C., Skipor, A., Jacobs, J.J., 2001. Orthopaedic implant related metal toxicity in terms of human lymphocyte reactivity to metal-protein complexes produced from cobalt-base and titanium-base implant alloy degradation. In: Shi, X., Castranova, V., Vallyathan, V., Perry, W.G. (Eds.), *Molecular Mechanisms of Metal Toxicity and Carcinogenesis, Developments in Molecular and Cellular Biochemistry*. Springer US, Boston, MA, pp. 127–136.
- Harding, I.S., Rashid, N., Hing, K.A., 2005. Surface charge and the effect of excess calcium ions on the hydroxyapatite surface. *Biomaterials* 26, 6818–6826.

-
- Hillig, W.B., Choi, Y., Murtha, S., Natravali, N., Ajayan, P., 2008. An open-pored gelatin/hydroxyapatite composite as a potential bone substitute. *J Mater Sci* 7.
- Hing, K.A., Revell, P.A., Smith, N., Buckland, T., 2006. Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds. *Biomaterials* 27, 5014–5026.
- Hjerpe, J., Närhi, T.O., Vallittu, P.K., Lassila, L.V.J., 2016. Surface roughness and the flexural and bend strength of zirconia after different surface treatments. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 116, 577–583.
- Ho, K.-L.G., Pometto III, A.L., 1999. Effects of Electron-Beam Irradiation and Ultraviolet Light (365 nm) on Polylactic Acid Plastic Films. *Journal of Polymers and the Environment* 7, 93–100.
- Hochrein, O., Kniep, R., Zahn, D., 2005. Atomistic Simulation Study of the Order/Disorder (Monoclinic to Hexagonal) Phase Transition of Hydroxyapatite. *Chem. Mater.* 17, 1978–1981.
- Hong, M.-H., Oh, D.S., Lee, Y.-K., 2011. Drug release from porous hydroxyapatite spheres as a synthetic bone-graft material 48, S186.
- Howlett, C.R., Evans, M.D.M., Walsh, W.R., Johnson, G., Steele, J.G., 1994. Mechanism of initial attachment of cells derived from human bone to commonly used prosthetic materials during cell culture. *Biomaterials* 15, 213–222.
- Hozumi, A., Shirahata, N., Nakanishi, Y., Asakura, S., Fuwa, A., 2004. Wettability control of a polymer surface through 126 nm vacuum ultraviolet light irradiation. *Journal of Vacuum Science & Technology A* 22, 1309–1314.
- Josna, J., Pradeep Kumar, R., John, A., Abraham, A., 2020. Phytochemical Incorporated Spun Nanofibrous Polycaprolactone Scaffold for Stem Cell Loading and Drug Delivery Applications. *Blomaterials and Artificial Organs* 34, 75–83.
- Jung, J.-Y., Hong, Y.-J., Choi, Y.S., Jeong, S., Lee, W.-K., 2009. A new method for the preparation of bioactive calcium phosphate films hybridized with 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3. *J Mater Sci* 13.
- Kalthoum, F., 2015. Tension Superficielle et Angle de Contact [WWW Document]. *physique.unice.fr*. URL <http://physique.unice.fr/sem6/2014-2015/PagesWeb/PT/Rigidite/tension.html>
- Kaminski, A., Grazka, E., Jastrzebska, A., Marowska, J., Gut, G., Wojciechowski, A., Uhrynowska-Tyszkiewicz, I., 2012. Effect of accelerated electron beam on mechanical properties of human cortical bone: influence of different processing methods. *Cell Tissue Bank* 13, 375–386.
- Kaneko, S., Yamamoto, Y., Wada, K., Kumagai, G., Harada, Y., Yamauchi, R., Ishibashi, Y., 2020. Ultraviolet irradiation improves the hydrophilicity and osteoconduction of hydroxyapatite (preprint). In Review.
- Kawasaki, T., 1991. Hydroxyapatite as a liquid chromatographic packing. *Journal of Chromatography A* 544, 147–184.
- Keller, J.C., Schneider, G.B., Stanford, C.M., Kellogg, B., 2003. Effects of Implant Microtopography on Osteoblast Cell Attachment. *Implant Dentistry* 12, 175–181.
- Khan, A.S., Chaudhry, A.A., 2019. *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites*. Woodhead Publishing.
- Khedir, K.R., Kannarpady, G.K., Ryerson, C., Biris, A.S., 2017. An outlook on tunable superhydrophobic nanostructural surfaces and their possible impact on ice mitigation. *Progress in Organic Coatings* 112, 304–318.

-
- Kim, S.M., Fan, H., Cho, Y.J., Eo, M.Y., Park, J.H., Kim, B.N., Lee, B.C., Lee, S.K., 2015. Electron beam effect on biomaterials I: focusing on bone graft materials. *Biomater Res* 19, 10.
- Ko, E., Lee, J.S., Kim, H., Yang, S.Y., Yang, D., Yang, K., Lee, J., Shin, J., Yang, H.S., Ryu, W., Cho, S.-W., 2018. Electrospun Silk Fibroin Nanofibrous Scaffolds with Two-Stage Hydroxyapatite Functionalization for Enhancing the Osteogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10, 7614–7625.
- Koban, I., Duske, K., Jablonowski, L., Schröder, K., Nebe, B., Sietmann, R., Weltmann, K.-D., Hübner, N.-O., Kramer, A., Kocher, T., 2011. Atmospheric Plasma Enhances Wettability and Osteoblast Spreading on Dentin In Vitro: Proof-of-Principle. *Plasma Processes and Polymers* 8, 975–982.
- Lafon, J.P., Champion, E., Bernache-Assollant, D., 2008. Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6-x(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}(\text{CO}_3)_y$ ceramics with controlled composition. *Journal of the European Ceramic Society* 28, 139–147.
- Lala, S., Satpati, B., Pradhan, S.K., 2016. Sintering behavior and growth mechanism of β -TCP in nanocrystalline hydroxyapatite synthesized by mechanical alloying. *Ceramics International* 42, 13176–13182.
- Laput, O., Vasenina, I., Salvadori, M.C., Savkin, K., Zuza, D., Kurzina, I., 2019. Low-temperature plasma treatment of polylactic acid and PLA/HA composite material. *J Mater Sci* 54, 11726–11738.
- Lazić, S., Katanić-Popović, J., Zec, S., Miljević, N., 1996. Properties of hydroxyapatite crystallized from high temperature alkaline solutions. *Journal of Crystal Growth* 165, 124–128.
- Lee, D., Moriguchi, Y., Okada, K., Myoui, A., Yoshikawa, H., Hamaguchi, S., 2011. Improvement of Hydrophilicity of Interconnected Porous Hydroxyapatite by Dielectric Barrier Discharge Plasma Treatment. *IEEE Transactions on Plasma Science* 39, 2166–2167.
- Lee, D.W., Kim, J.Y., Lew, D.H., 2010. Use of Rapidly Hardening Hydroxyapatite Cement for Facial Contouring Surgery. *Journal of Craniofacial Surgery* 21, 1084–1088.
- Lee, J.H., Lee, S.J., Khang, G., Lee, H.B., 2000. The Effect of Fluid Shear Stress on Endothelial Cell Adhesiveness to Polymer Surfaces with Wettability Gradient. *Journal of Colloid and Interface Science* 230, 84–90.
- Lee, J.S., Murphy, W.L., 2013. Functionalizing Calcium Phosphate Biomaterials with Antibacterial Silver Particles. *Advanced Materials* 25, 1173–1179.
- LeGeros, R.Z., 2002. Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 395, 81–98.
- Lim, J.Y., Liu, X., Vogler, E.A., Donahue, H.J., 2004. Systematic variation in osteoblast adhesion and phenotype with substratum surface characteristics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 68A, 504–512.
- Lim, Y.J., Oshida, Y., 2001. Initial contact angle measurements on variously treated dental/medical titanium materials. *Bio-Medical Materials and Engineering* 11, 325–341.
- Lin, T.-J., Heinz, H., 2016. Accurate Force Field Parameters and pH Resolved Surface Models for Hydroxyapatite to Understand Structure, Mechanics, Hydration, and Biological Interfaces. *J. Phys. Chem. C* 120, 4975–4992.

-
- Liu, W., Chang, J., 2009. In vitro evaluation of gentamicin release from a bioactive tricalcium silicate bone cement. *Materials Science and Engineering: C* 29, 2486–2492.
- Lu, H.B., Campbell, C.T., Graham, D.J., Ratner, B.D., 2000. Surface Characterization of Hydroxyapatite and Related Calcium Phosphates by XPS and TOF-SIMS. *Anal. Chem.* 72, 2886–2894.
- Lucas-Girot, A., Verdier, M.-C., Tribut, O., Sangleboeuf, J.-C., Allain, H., Oudadesse, H., 2005. Gentamicin-loaded calcium carbonate materials: Comparison of two drug-loading modes. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 73B, 164–170.
- Luo, D., Ruan, S., Liu, A., Kong, X., Lee, I.-S., Chen, C., 2018. Laminin functionalized biomimetic apatite to regulate the adhesion and proliferation behaviors of neural stem cells. *Int J Nanomedicine* 13, 6223–6233.
- Ma, J., Zhang, X.Y., Wang, D.P., Zhao, D.Q., Ding, D.W., Liu, K., Wang, W.H., 2014. Superhydrophobic metallic glass surface with superior mechanical stability and corrosion resistance. *Appl. Phys. Lett.* 104, 173701.
- Manolache, S., Jiang, H., Rowell, R.M., Denes, F.S., 2008. Hydrophobic Wood Surfaces Generated by Non-Equilibrium, Atmospheric Pressure (NEAPP) Plasma-Enhanced Coating. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* 483, 348–351.
- Marieb, E.N., Lachaine, R., 2005. *Anatomie et physiologie humaines*. Pearson Education France, Paris.
- Martin, J.Y., Schwartz, Z., Hummert, T.W., Schraub, D.M., Simpson, J., Lankford, J., Dean, D.D., Cochran, D.L., Boyan, B.D., 1995. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). *Journal of Biomedical Materials Research* 29, 389–401.
- Massines, F., Gouda, G., 1998. A comparison of polypropylene-surface treatment by filamentary, homogeneous and glow discharges in helium at atmospheric pressure. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 31, 3411–3420.
- Mekayarajananonth, T., Winkler, S., 1999. Contact Angle Measurement on Dental Implant Biomaterials. *J Oral Implantol* 25, 230–236.
- Meldrum, A., Wang, L.M., Ewing, R.C., 1997. Electron-irradiation-induced phase segregation in crystalline and amorphous apatite: A TEM study. *American Mineralogist* 82, 858–869.
- Menetrez, M.Y., Foarde, K.K., Dean, T.R., Betancourt, D.A., 2010. The effectiveness of UV irradiation on vegetative bacteria and fungi surface contamination. *Chemical Engineering Journal* 157, 443–450.
- Merry, J.C., Gibson, I.R., Best, S.M., Bonfield, W., 1998. Synthesis and characterization of carbonate hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 9, 779–783.
- M.Gregor, Plecenik, T., Tofail, S.A.M., Zahoran, M., Truchly, M., Vargova, M., Laffir, F., Plesch, G., Kus, P., Plecenik, A., 2015. Hydrophobicity of electron beam modified surface of hydroxyapatite films. *Applied Surface Science* 337, 249–253.
- Miyauchi, M., Kieda, N., Hishita, S., Mitsuhashi, T., Nakajima, A., Watanabe, T., Hashimoto, K., 2002. Reversible wettability control of TiO₂ surface by light irradiation. *Surface Science* 511, 401–407.
- Moriguchi, Y., Lee, D.-S., Chijimatsu, R., Thamina, K., Masuda, K., Itsuki, D., Yoshikawa, H., Hamaguchi, S., Myoui, A., 2018. Impact of non-thermal plasma

-
- surface modification on porous calcium hydroxyapatite ceramics for bone regeneration. *PLOS ONE* 13.
- Moroi, A., Okuno, M., Kobayashi, G., Gamo, H., Serizawa, I., Yoshizawa, K., Ikawa, H., Ueki, K., 2018. Effect on surface character and mechanical property of unsintered hydroxyapatite/poly-L-lactic acid (uHA/PLLA) material by UV treatment. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 106, 191–200.
- Moulder, D., Stickle, W.F., Sobol, P.E., Bomben, K.D., 1992. *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy*.
- Murao, S., Inoue, T., Saito, M., Yamamoto, M., Nishimura, F., Miyazaki, T., 2018. Wettability of Dentin Structure after Exposure to Excimer UV Irradiation. *The Showa University Journal of Medical Sciences* 30, 477–485.
- Nakamura, M., Nagai, A., Ohashi, N., Tanaka, Y., Sekijima, Y., Nakamura, S., Yamashita, K., 2008. Regulation of Osteoblast-Like Cell Behaviors on Hydroxyapatite by Electrical Polarization. *Key Engineering Materials* 361–363, 1055–1058.
- Nakamura, S., Kobayashi, T., Yamashita, K., 2002. Extended bioactivity in the proximity of hydroxyapatite ceramic surfaces induced by polarization charges. *Journal of Biomedical Materials Research* 61, 593–599.
- Nakamura, S., Takeda, H., Yamashita, K., 2001. Proton transport polarization and depolarization of hydroxyapatite ceramics. *Journal of Applied Physics* 89, 5386–5392.
- Nishi, Y., Izumi, H., Kawano, J., Oguri, K., Kawaguchi, Y., Ogata, M., Tonegawa, A., Takayama, K., Kawai, T., Ochi, M., 1997. Effect of electron-beam irradiation on water wettability of hydroxy apatites for artificial bone. *Journal of Materials Science* 32, 3637–3639.
- Nishikawa, H., Omamiuda, K., 2002. Photocatalytic activity of hydroxyapatite for methyl mercaptane. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 179, 193–200.
- Niu, Z., Zhang, C., Shao, T., Xu, J., Yan, P., Schamiloglu, E., 2012. Surface modification of polymers by a nanosecond-pulse plasma jet. In: 2012 IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC). Presented at the 2012 IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC), pp. 544–547.
- Oliver, J.F., Huh, C., Mason, S.G., 1976. The Apparent Contact Angle of Liquids on Finely-Grooved Solid Surfaces-A SEM Study. *The Journal of Adhesion* 8, 223–234.
- Opre, Z., Grunwaldt, J.-D., Mallat, T., Baiker, A., 2005. Selective oxidation of alcohols with oxygen on Ru–Co-hydroxyapatite: A mechanistic study. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 242, 224–232.
- Ou, H., Gao, N., Deng, Y., Qiao, J., Wang, H., 2012. Immediate and long-term impacts of UV-C irradiation on photosynthetic capacity, survival and microcystin-LR release risk of *Microcystis aeruginosa*. *Water Research* 46, 1241–1250.
- Park, J., Lakes, R.S., 2007. *Biomaterials: An Introduction*. Springer Science & Business Media.
- Plečenič, T., Tofail, S. a. M., Gregor, M., Zahoran, M., Truchly, M., Laffir, F., Roch, T., Durina, P., Vargova, M., Plesch, G., Kus, P., Plečenič, A., 2011. Direct creation of microdomains with positive and negative surface potential on hydroxyapatite coatings. *Appl. Phys. Lett.* 98, 113701.
- Ponsonnet, L., Reybier, K., Jaffrezic, N., Comte, V., Lagneau, C., Lissac, M., Martelet, C., 2003. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of

-
- titanium and titanium alloys and cell behaviour. *Materials Science and Engineering: C* 23, 551–560.
- Rakngarm Nimkerdphol, A., Otsuka, Y., Mutoh, Y., 2014. Effect of dissolution/precipitation on the residual stress redistribution of plasma-sprayed hydroxyapatite coating on titanium substrate in simulated body fluid (SBF). *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 36, 98–108.
- Rašeta, M., Mrdović, B., Janković, V., Bečkej, Z., Lakičević, B., Vidanović, D., Polaček, V., 2017. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in meat products, meat preparations and minced meat. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 85, 012028.
- Raynaud, S., Champion, E., Bernache-Assollant, D., Laval, J.-P., 2001. Determination of Calcium/Phosphorus Atomic Ratio of Calcium Phosphate Apatites Using X-ray Diffractometry. *Journal of the American Ceramic Society* 84, 359–66.
- Raynaud, S., Champion, E., Bernache-Assollant, D., Thomas, P., 2002. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. *Biomaterials* 23, 1065–1072.
- Renault, F., Chabrière, E., Andrieu, J.-P., Dublet, B., Masson, P., Rochu, D., 2006. Tandem purification of two HDL-associated partner proteins in human plasma, paraoxonase (PON1) and phosphate binding protein (HPBP) using hydroxyapatite chromatography. *Journal of Chromatography B* 836, 15–21.
- Rey, C., Combes, C., Drouet, C., Grossin, D., 2011. Bioactive ceramics: physical chemistry.
- Riboud, P.V., 1973. Composition et stabilité des phases. Structure d'apatite dans le système CaO-P₂O₅-Oxyde de fer-H₂O à hautes températures. *Annales de chimie Française* 8, 381–390.
- Ruardy, T.G., Schakenraad, J.M., Mei, H.C. van der, Busscher, H.J., 1995. Adhesion and spreading of human skin fibroblasts on physicochemically characterized gradient surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research* 29, 1415–1423.
- Rushe, N., Ball, M., Carroll, W.M., Healy, S., McManus, J., Cunningham, D., 2005. Cytocompatibility of novel tin oxide thin films. *J Mater Sci: Mater Med* 16, 247–252.
- Sabayev, V., Aronov, D., Oster, L., Rosenman, G., 2008. Electron-induced surface reactivity modification in Zinc oxide-based thin films. *Appl. Phys. Lett.* 93.
- Salama, A., Neumann, M., Günter, C., Taubert, A., 2014. Ionic liquid-assisted formation of cellulose/calcium phosphate hybrid materials. *Beilstein J. Nanotechnol.* 5, 1553–1568.
- Samaha, M.A., Tafreshi, H.V., Gad-el-Hak, M., 2012. Superhydrophobic surfaces: From the lotus leaf to the submarine. *Comptes Rendus Mécanique, Biomimetic flow control* 340, 18–34.
- Santos, K.H., Ferreira, J.A., Osiro, D., de Carvalho, R.A., Alberto Colnago, L., Alves Júnior, C., Maria de Jesus Agnolon Pallone, E., 2020. Influence of the cold plasma treatment on the Al₂O₃/ZrO₂ nanocomposites surfaces. *Applied Surface Science* 531.
- Schubert, S., Freitag, R., 2007. Comparison of ceramic hydroxy- and fluoroapatite versus Protein A/G-based resins in the isolation of a recombinant human antibody from cell culture supernatant. *Journal of Chromatography A, 19th International Symposium on Preparative and Process Chromatography* 1142, 106–113.

-
- Sebti, S., Tahir, R., Nazih, R., Boulaajaj, S., 2001. Comparison of different Lewis acid supported on hydroxyapatite as new catalysts of Friedel–Crafts alkylation. *Applied Catalysis A: General* 218, 25–30.
- Shang, Q., Zhou, Y., 2016. Fabrication of transparent superhydrophobic porous silica coating for self-cleaning and anti-fogging. *Ceramics International* 42, 8706–8712.
- Shi, Y.-T., Cheng, H.-Y., Geng, Y., Nan, H.-M., Chen, W., Cai, Q., Chen, B.-H., Sun, X.-D., Yao, Y.-W., Li, H.-D., 2010. The size-controllable synthesis of nanometer-sized mesoporous silica in extremely dilute surfactant solution. *Materials Chemistry and Physics* 120, 193–198.
- Shin, D.-W., Sohn, M.-J., Cho, C.-R., Koo, H., Yoon, S.W., 2020. Evaluation of Cumulative and Conditional Antibiotic Release from Vancomycin-Embedded Fibrin Sealant and Its Antibacterial Activity: An In Vitro Study. *J Korean Neurosurg Soc* 63, 45–55.
- Sorrentino, L., Carrino, L., 2009. 2024 aluminium alloy wettability and superficial cleaning improvement by air cold plasma treatment. *Journal of Materials Processing Technology* 209, 1400–1409.
- Spelt, J.K., Absolom, D.R., Neumann, A.W., 1986. Solid surface tension: The interpretation of contact angles by the equation of state approach and the theory of surface tension components | *Langmuir*.
- Suzuki, T., Hatsushika, T., Hayakawa, Y., 1981. Synthetic hydroxyapatites employed as inorganic cation-exchangers. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 77, 1059–1062.
- Tadic, D., Peters, F., Epple, M., 2002. Continuous synthesis of amorphous carbonated apatites. *Biomaterials* 23, 2553–2559.
- Taha, M., Chai, F., Blanchemain, N., Goube, M., Martel, B., Hildebrand, H.F., 2013. Validating the poly-cyclodextrins based local drug delivery system on plasma-sprayed hydroxyapatite coated orthopedic implant with toluidine blue O. *Materials Science and Engineering: C* 33, 2639–2647.
- Tan, F., O'Neill, F., Naciri, M., Dowling, D., Al-Rubeai, M., 2012. Cellular and transcriptomic analysis of human mesenchymal stem cell response to plasma-activated hydroxyapatite coating. *Acta Biomaterialia* 8, 1627–1638.
- Tasker, P.W., 1979. The stability of ionic crystal surfaces. *J. Phys. C: Solid State Phys.* 12, 4977–4984.
- Thermo Fisher, 2013. Thermo Scientific XPS: Knowledge Base [WWW Document]. URL <https://xpssimplified.com/periodictable.php> (accessed 2.1.21).
- Tiznado-Orozco, G.E., Reyes-Gasga, J., Elefterie, F., Beyens, C., Maschke, U., Brès, E.F., 2015. Wettability modification of human tooth surface by water and UV and electron-beam radiation. *Materials Science and Engineering: C* 57, 133–146.
- Tofail, S.A.M., 2011. *Biological Interactions with Surface Charge in Biomaterials*. Royal Society of Chemistry.
- Tsuchida, T., Sakuma, S., Takeguchi, T., Ueda, W., 2006. Direct Synthesis of n-Butanol from Ethanol over Nonstoichiometric Hydroxyapatite. *Ind. Eng. Chem. Res.* 45, 8634–8642.
- Uysal, I., Severcan, F., Tezcaner, A., Evis, Z., 2014. Co-doping of hydroxyapatite with zinc and fluoride improves mechanical and biological properties of hydroxyapatite. *Progress in Natural Science: Materials International* 24, 340–349.

-
- Vargha-Butler, E.I., Kashi, M., Hamza, H.A., Neumann, A.W., 1986. Direct Contact Angle Measurements on Polished Sections of Coal. *Coal Preparation* 3, 53–75.
- Verma, A., Sharma, S., Gupta, P.K., Singh, A., Teja, B.V., Dwivedi, P., Gupta, G.K., Trivedi, R., Mishra, P.R., 2016. Vitamin B12 functionalized layer by layer calcium phosphate nanoparticles: A mucoadhesive and pH responsive carrier for improved oral delivery of insulin. *Acta Biomaterialia* 31, 288–300.
- Wang, M., 2003. Developing bioactive composite materials for tissue replacement. *Biomaterials, Focus on Biomaterials Science in Asia* 24, 2133–2151.
- Wassell, D.T.H., Hall, R.C., Embery, G., 1995. Adsorption of bovine serum albumin onto hydroxyapatite. *Biomaterials* 16, 697–702.
- Webster, T.J., Ergun, C., Doremus, R.H., Lanford, W.A., 2003. Increased osteoblast adhesion on titanium-coated hydroxylapatite that forms CaTiO₃. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 67A, 975–980.
- Wei, J., Liu, A., Chen, L., Zhang, P., Chen, X., Jing, X., 2009. The Surface Modification of Hydroxyapatite Nanoparticles by the Ring Opening Polymerization of γ -Benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride. *Macromolecular Bioscience* 9, 631–638.
- Weidmann, D., 2010. *Aide-mémoire Textiles techniques*. Dunod.
- Wenzel, R.N., 1936. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial & Engineering Chemistry*.
- WHO Model Lists of Essential Medicines [WWW Document], 2019. URL <https://www.who.int/groups/expert-committee-on-selection-and-use-of-essential-medicines/essential-medicines-lists> (accessed 12.7.20).
- Winingar, D.A., Fass, R.J., 1996. Antibiotic-impregnated cement and beads for orthopedic infections. *Antimicrob Agents Chemother* 40, 2675–2679.
- Woodard, J.R., Hildore, A.J., Lan, S.K., Park, C.J., Morgan, A.W., Eurell, J.A.C., Clark, S.G., Wheeler, M.B., Jamison, R.D., Wagoner Johnson, A.J., 2007. The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity. *Biomaterials* 28, 45–54.
- Wuyts, S., De Vos, D.E., Verpoort, F., Depla, D., De Gryse, R., Jacobs, P.A., 2003. A heterogeneous Ru–hydroxyapatite catalyst for mild racemization of alcohols. *Journal of Catalysis* 219, 417–424.
- Yadav, V., Harkin, A.V., Robertson, M.L., Conrad, J.C., 2016. Hysteretic memory in pH-response of water contact angle on poly(acrylic acid) brushes. *Soft Matter* 12, 3589–3599.
- Yamaguchi, T., Tanaka, Y., Ide-Ekessabi, A., 2006. Fabrication of hydroxyapatite thin films for biomedical applications using RF magnetron sputtering. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, Ion Beam Analysis* 249, 723–725.
- Yamamoto, T., Okubo, M., Imai, N., Mori, Y., 2004. Improvement on Hydrophilic and Hydrophobic Properties of Glass Surface Treated by Nonthermal Plasma Induced by Silent Corona Discharge. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 24, 1–12.
- Yasuda, K., Okazaki, Y., Abe, Y., Tsuga, K., 2017. Effective UV/Ozone irradiation method for decontamination of hydroxyapatite surfaces. *Heliyon* 3, e00372.
- Yin, Y., Li, T., Fan, F., Zhao, C., Wang, C., 2013. Dynamically modifiable wettability comparisons of the hydrophilic and hydrophobic substrates coated with F/TiO₂ hybrid sol by UV irradiation. *Applied Surface Science* 283, 482–489.

-
- Yoshikawa, H., Tamai, N., Murase, T., Myoui, A., 2009. Interconnected porous hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *Journal of The Royal Society Interface* 6, S341–S348.
- Zhao, W., Xu, Z., Yang, Y., Sahai, N., 2014. Surface Energetics of the Hydroxyapatite Nanocrystal–Water Interface: A Molecular Dynamics Study. *Langmuir* 30, 13283–13292.
- Zheng, J., Weng, L.Q., Shi, M.Y., Zhou, J., Hua, L.C., Qian, L.M., Zhou, Z.R., 2013. Effect of water content on the nanomechanical properties and microtribological behaviour of human tooth enamel. *Wear, Wear of Materials* 2013 301, 316–323.
- Zougrou, I.M., Katsikini, M., Brzhezinskaya, M., Pinakidou, F., Papadopoulou, L., Tsoukala, E., Paloura, E.C., 2016. Ca L2,3-edge XANES and Sr K-edge EXAFS study of hydroxyapatite and fossil bone apatite. *Sci Nat* 103, 60.
- Zurlinden, K., Laub, M., Jennissen, H.P., 2005. Chemical Functionalization of a Hydroxyapatite Based Bone Replacement Material for the Immobilization of Proteins. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* 36, 820–827.

Liste des tableaux

Tableau 1: Catégories de matériaux utilisés dans le corps humain (Park and Lakes, 2007).	1
Tableau 2: Classement des différents orthophosphates de calcium utilisés comme biomatériaux suivant leur rapport Ca/P.	3
Tableau 3: Comparaison des compositions des phases inorganiques de tissus humain calcinés. (* mesures sur cendres) (Dorozhkin and Epple, 2002).	4
Tableau 4: Substitutions non exhaustives dans la maille des apatites.	5
Tableau 5: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface de pastilles HAG polies et nettoyées aux bains à ultrasons dans différents solvants (THF, eau ultrapure et éthanol).	40
Tableau 6: Moyenne de rugosité à des localisations différentes pour plusieurs méthodes de polissage de pastilles Ech et HA.	68
Tableau 7: Rugosité à des localisations différentes pour des tailles de grains de polissage de 4 et 200 μm	69
Tableau 8: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de LV5 et LV6 non polies ainsi que LV7 et LV8 polies.	78
Tableau 9: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de LV5, LV7 ainsi que 2 polissages et nettoyages consécutifs entre les nouvelles mesures.	78
Tableau 10: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de LV15 et LV16 pour des temps de stockage en étuve de 24 heures et 6 jours.	79
Tableau 11: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles. Il y a eu repolissage et nettoyage puis remise en étuve entre les pastilles HAGx et HAGx_1.	79
Tableau 12: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles pour un temps de stockage en étuve de 20 heures.	79
Tableau 13: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles. Pastilles laissées à l'air libre 1 jour et 2 jours.	80
Tableau 14: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles. Pastilles conservées immergées dans un volume d'eau distillée pendant différents temps.	80
Tableau 15: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles HAG. Pastilles stockées en dessiccateur sous vide pendant différents temps.	81

Tableau 16: Valeurs d'angles de goutte à différents endroits de la surface des pastilles HA et Ech. Pastilles stockées en dessiccateur sous vide pendant un temps de 24h.	82
Tableau 17: Rapports Ca/P et pourcentage de la phase β -TCP du lot 1 après polissage des surfaces obtenus par DRX (Raynaud et al., 2001).	86
Tableau 18: Calcul des rapports Ca/P et du pourcentage de la phase β -TCP pour HAG5, HAG8 et leur diminution d'épaisseur d'un quart (Raynaud et al., 2001).	87
Tableau 19: Calcul des rapports Ca/P et du pourcentage de la phase β -TCP après polissage des surfaces. Pastilles du lot 2 qui comportent un pic de plus grande intensité de β -TCP permettant une lecture (Raynaud et al., 2001).	95
Tableau 20: Valeurs de rugosité à des localisations différentes pour des tailles de grains de polissage de 4 et 200 μm	107
Tableau 21: Analyses XPS des composants carbonés présents en surface d'un échantillon vierge ainsi que de leur énergie de liaison et de leur contribution en pourcentage. Pic C1s.	115
Tableau 22: Pourcentages atomiques et énergies de liaisons obtenus par XPS pour les éléments O1s, C1s, Ca2p, P2p et N1s.	115
Tableau 23: Valeurs de répétabilité d'angles de goutte initiales à la surface de pastilles irradiées à une dose de 40 kGy (tension d'accélération à 180 kV).	134
Tableau 24: Paramètres des traitements de surface électronique.	135
Tableau 25: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 40 kGy (tension d'accélération de 180 kV).	135
Tableau 26: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 975 kGy (tension d'accélération de 110 kV).	137
Tableau 27: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 460 kGy (tension d'accélération de 180 kV).	140
Tableau 28: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 640 kGy (tension d'accélération de 150 kV).	142

Tableau 29: Pourcentage atomique des éléments calcium et phosphore obtenu par EDX sur une surface irradiée sous air. Comparaison entre les zones modifiées et non modifiées chimiquement et structurellement.	147
Tableau 30: Positions des pics décomposés de O1s, C1s et N1s ainsi que leur composition en pourcentage atomique pour une surface irradiée sous air et une surface irradiée sous azote à une dose de 640 kGy.....	153
Tableau 31: Pourcentages atomiques et énergies de liaisons obtenus par XPS pour les éléments O1s, C1s, Ca2p, P2p et N1s pour une surface irradiée sous air et une surface irradiée sous azote à une dose de 640 kGy.....	153
Tableau 32: Paramètres des traitements de surface électronique uniquement sous azote à faible dose.	157
Tableau 33: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 110 kGy (tension d'accélération de 180 kV).	158
Tableau 34: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 185 kGy (tension d'accélération de 180 kV).	159
Tableau 35: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations électroniques à une valeur de 260 kGy (tension d'accélération de 180 kV).	160
Tableau 36: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs.	163
Tableau 37: Nombres de passages sous la source UV et dose associée.	165
Tableau 38: Récapitulatif des valeurs d'angles de goutte initiales pour les différentes irradiations UV réalisées.....	165
Tableau 39: Composition chimique atomique en pourcentage d'une surface d'HA traitée par quatre irradiations UV.....	174
Tableau 40: Valeurs de répétabilité d'angles de goutte initiales à la surface de pastilles traitées par plasma froid. Temps d'attente de 15 minutes avant la première mesure.	175
Tableau 41: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les irradiations plasma effectuées.	175
Tableau 42: Composition chimique atomique en pourcentage d'une surface d'HA traitée par plasma.....	184

Tableau 43: Valeurs d'angles de goutte initiales pour les irradiations électroniques à une valeur de 460 kGy et les irradiations consécutives par UV puis par des électrons.	184
Tableau 44: Valeurs initiales d'angles de goutte obtenues après irradiation à une dose de 640 kGy pour les différents moyens de stérilisation testés.	191
Tableau 45: Recommandation de l'Institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI) (Rašeta et al., 2017).	199

Liste des figures

Figure 1: (a) Projection du plan (001) de la maille d'hydroxyapatite sur le plan xy, (b) environnement atomique des sites Ca ₍₁₎ et (c) environnement atomique des sites Ca ₍₂₎ (Zougrou et al., 2016).	5
Figure 2: Triangles de calcium Ca ₍₂₎ (en blanc) qui intègrent les groupements OH avec un positionnement haut et bas. L'occupation des positions hautes et basses est de 0,5 (en noir) (Hochrein et al., 2005).....	6
Figure 3: Diagramme de phases de l'hydroxyapatite.....	8
Figure 4: Illustration des différentes tensions existantes durant le contact d'une goutte d'eau avec un solide (Kalthoum, 2015).....	11
Figure 5: Mesure dynamique d'un dépôt d'une goutte d'eau sur la surface d'une pastille.	41
Figure 6: Schéma du plateau de réglage et descriptif des mesures d'angles erronées.	42
Figure 7: Positions des gouttes pour les mesures d'angles sur la surface des pastilles.	43
Figure 8: Schéma démonstratif de l'application de la loi de Bragg.	44
Figure 9: Schéma du dispositif dans des conditions totales d'immersion du faisceau (en rouge) et de la surface.....	46
Figure 10: Schéma du principe de fonctionnement d'un MEB (Chal et al., 2007) ...	48
Figure 11: Principe de fonctionnement du Tof-SIMS (©ION-TOF GmbH).	50
Figure 12: Photos du dispositif Comet et de pastilles d'HA prêtes à être irradiées...	51
Figure 13: Schéma du dispositif Comet Elab 210 (à gauche) et de l'enceinte du canon à électrons (à droite).....	52
Figure 14: Evolution de la pénétration du pourcentage de dose dans un matériau quelconque.....	53
Figure 15: Dispositif Honle.....	54
Figure 16: Spectre d'émission de la lampe à mercure UVH de type Z du système Dr. Hönle.	55
Figure 17: Dispositif d'irradiation par plasma froid.....	56
Figure 18: Schéma de disposition des différents prélèvements et mesure du diamètre d'inhibition.....	59

Figure 19: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur 3 pastilles Ech polies à #2000.	64
Figure 20: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur 6 pastilles Ech	65
Figure 21: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps de 6 pastilles Ech polies par paires. Ech2/10 polies sb, Ech4/11 polies en (O) et Ech14/27 polies 4pts.	66
Figure 22: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur des paires de pastilles Ech et HA. Les graphiques de droites ont été obtenues avec des valeurs réalisées après un repolissage et renettoyage de la surface.	67
Figure 23: Regroupement des évolutions des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur les pastilles Ech et HA à différents polissages.....	68
Figure 24: Profils de rugosité des pastilles HA2 et Ech28 qui ont été polies avec des tailles de grains de 4 μm et 200 μm respectivement.	69
Figure 25: Evolutions des mesures d'angles de goutte en fonction du temps. A gauche pour un polissage à 4 μm et à droite pour un polissage à 200 μm	70
Figure 26: Images de microscopie optique d'une pastille HA (échelle de 200 μm à gauche et 50 μm à droite).....	71
Figure 27: : Images par microscopie optique des surfaces de HA polie en (O) (à gauche) et HA polie en (8) (à droite), nettoyées (échelle de 200 μm).	71
Figure 28: Images par microscopie optique des surfaces de HA pour des temps de nettoyage au bain à ultrason de 30min (à gauche) et d'une heure (à droite).....	72
Figure 29: Images par microscopie en optique des surfaces de HA pour un polissage en cercle (à gauche) et en 8 (à droite).....	72
Figure 30: Images MEB en électrons secondaires de HA30 (à gauche) et de Ech14 (à droite) (échelle de 200 μm et de 50 μm respectivement).....	73
Figure 31: Images MEB en électrons rétrodiffusés de HA1 (échelle de 50 μm à gauche et de 5 μm à droite).	74
Figure 32: Spectres Infrarouge de différentes pastilles HA et Ech.	75
Figure 33: Diffractogrammes des pastilles Ech9, Ech20, HA9 et HA11 qui comprennent les pics de plus grandes intensités de la phase cristalline d'HA.	76
Figure 34: Spectre Infrarouge en transmittance de HAG14.....	83
Figure 35: Diffractogrammes de HAG1 et HAG2 avec les pics des plans (300), (0210) et (200) de la phase β -TCP.	84

Figure 36: Diffractogrammes de HAG5 et HAG5' normalisés. Observation de la diminution de l'intensité du pic de la phase de β -TCP.	85
Figure 37: Diffractogrammes de HAG8 et HAG8' normalisés. Observation de l'augmentation de l'intensité des pics de la phase HA sans modification du pic de la phase β -TCP.	85
Figure 38: Fiche ICDD 96-901-0052 de l'Apatite-(CaOH) qui attribue tous les pics de la phase cristalline obtenue.	87
Figure 39: Spectre Raman de référence pour la phase β -TCP.	88
Figure 40: Spectres Raman de HAG2. Zoom dans le domaine d'apparition du pic de β -TCP.	89
Figure 41: Spectres Raman de HAG4. Zoom dans le domaine d'apparition du pic de β -TCP.	89
Figure 42: Spectres Raman de HAG13 sans présence de β -TCP.	90
Figure 43: Spectres de HAG10 sans la présence de β -TCP.	91
Figure 44: Evolutions des mesures d'angles de goutte en fonction du temps de pastilles non polies sans β -TCP (a) et pastilles non polies avec β -TCP (b).	92
Figure 45: Spectre Infrarouge en transmittance de HAG15.	94
Figure 46: Comparaison des spectres Infrarouge de chaque pastille étudiée.	95
Figure 47: Diffractogrammes de HAG49 et HAG56. HAG56 qui présente un des pics à 31° les mieux mesurables.	96
Figure 48: Diffractogramme de la poudre d'HA avant mise en barbotine pour frittage.	97
Figure 49: Spectres Raman d'une pastille ne possédant pas de phase β -TCP en DRX. Zoom dans le domaine d'apparition du pic β -TCP.	98
Figure 50: Spectres Raman d'une pastille possédant de phase β -TCP en DRX. Zoom dans le domaine d'apparition du pic β -TCP.	98
Figure 51: Spectres Raman de HAG77. Le spectre noir est le résultat d'une analyse sur la plus petite face et le spectre rouge sur la grande.	99
Figure 52: Spectres Raman de HAG62 qui a vu son épaisseur diminuer d'un quart pour une analyse en profondeur du matériau.	100
Figure 53: : Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur les pastilles HAG16 à HAG22 issues du lot 2 pour des polissages « sans bouger » et « 4 points ».	101

Figure 54: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur HAG17 à 4 dates différentes pour deux polissages "sb" et deux polissages "4pts".	102
Figure 55: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur HAG16, HAG17, HAG18 et HAG19 pour des polissages 4pts, sb, sb et 4pts respectivement.	103
Figure 56: Images par microscopie optique de HAG35 non polie et non nettoyé (échelle de 200 μm à gauche et de 50 μm à droite).	103
Figure 57: Images par microscopie optique de HAG polie, nettoyé. Grossissement x500 (à gauche) et x2 000 (à droite).	104
Figure 58: Images par microscopie optique de HAG polie, nettoyé. Grossissement x500 (à gauche) et x2 000 (à droite).	104
Figure 59: Images MEB en électrons rétrodiffusés de HAG polie et nettoyé à des grossissements différents (échelle de 10 μm).	105
Figure 60: Images MEB de HAG (échelle de 100 μm à gauche et de 10 μm à droite) pour un polissage plus long.	106
Figure 61: Images MEB de HAG dont l'épaisseur a été diminué de moitié (échelle de 100 μm à gauche et de 10 μm à droite).	106
Figure 62: Représentation schématique de la forme d'une pastille. La profondeur de la cavité supérieure est volontairement exagérée.	107
Figure 63: Profils de rugosité d'une pastille polie à 4 μm (gauche) et polie grossièrement à 200 μm (droite).	107
Figure 64: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG34 non polie non nettoyé (a) et de HAG35 polie non nettoyé (b).	109
Figure 65: Spectres Tof-SIMS négatifs de HAG34 non polie non nettoyé (a) et de HAG35 polie non nettoyé (b).	110
Figure 66: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG36 polie nettoyé au THF (a) et de HAG37 polie nettoyé à l'eau ultra pure (b).	111
Figure 67: Spectres Tof-SIMS négatifs de HAG36 polie nettoyé au THF (a) et de HAG37 polie nettoyé à l'eau ultra pure (b).	112
Figure 68: Spectre XPS de la surface d'HA vierge.	113
Figure 69: Pics XPS de l'HA: C1s et N1s.	113
Figure 70: Pics XPS représentatifs de l'HA : O1s, Ca2p et P2p.	114
Figure 71: Diffractogrammes de HAG69 sec (noir) et après 4h (rouge) sous une humidité de 25% prolongée jusqu'à 6 heures.	116

Figure 72: Diffractogrammes d'une pastille HAG sous forme de poudre et d'une pastille HAG. Les pics marqués par « * » ont une intensité plus élevée sous la forme de poudre.	117
Figure 73: Diffractogrammes de mélanges de poudre d'HA avec 10 et 30% d'alumine en masse.	118
Figure 74: Diffractogrammes du mélange 30 % en masse d'alumine et 70% d'HA. a) à sec (1h à 65°C). b) après 5 h sous 25% d'humidité. c) Retour à l'état initial sec.	119
Figure 75: Diffractogrammes de HAG65 ayant subi des mesures d'angles de goutte dans la zone d'analyse (centre) et HAG70 comme référence.	120
Figure 76: Spectre Raman de HAG50 ayant reçu une goutte d'eau sur la surface analysée.	121
Figure 77: Spectres Raman de HAG56 ayant reçu vingt gouttes d'eau sur la surface analysée.	121
Figure 78: Regroupement des spectres Raman durant la cinétique de mesures dans des conditions d'immersions de la surface analysée et du faisceau incident.	122
Figure 79: Orientations différentes du regroupement des spectres Raman durant la cinétique de mesures dans des conditions d'immersions de la surface analysée et du faisceau incident.	123
Figure 80: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges.	124
Figure 81: Valeurs d'angles de goutte initiales, des valeurs plateaux et des amplitudes entre ces deux valeurs pour les mesures d'angles de goutte consécutives sur des surfaces vierges.	124
Figure 82: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur Ech6 et Ech12 vierges et après irradiation électronique (EB).	132
Figure 83: Evolution des mesures d'angles de goutte en fonction du temps sur Ech13 et Ech14 vierges, après irradiation électronique (EB) et 10 heures de stockage après irradiation électronique.	133
Figure 84: Evolution des angles de contact pour des pastilles HAG irradiées à une dose de 975 kGy.	133
Figure 85: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 40 kGy.	136

Figure 86: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 975 kGy.....	139
Figure 87: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 460 kGy	141
Figure 88: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), irradiées sous air (b) et sous atmosphère d'azote (c) à une dose de 640 kGy.	143
Figure 89: Images MEB de pastilles vierges (A), irradiées sous air (B) et irradiées sous azote (C). Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.	146
Figure 90: Images EDX d'une pastille vierge, d'une zone de modification chimique et structurale (figure 89, image B3 et B4) d'une pastille irradiée sous air et d'une pastille irradiée sous azote.	147
Figure 91: Diffractogrammes en volume de deux pastilles HAG métallisées au Cr. HAG est une pastille de référence vierge et HAG EB une pastille irradiée sous air dont la modification chimique et structurale a été observée par MEB/EDX.....	148
Figure 92: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG vierge (a), HAG irradié sous air (b) et de HAG irradié sous N ₂ (c).....	149
Figure 93: Spectres Tof-SIMS négatifs de HAG vierge (a), HAG irradié sous air (b) et de HAG irradié sous N ₂ (c).....	150
Figure 94: Pics XPS C1s et O1s décomposés des surfaces irradiées sous air (gauche) et sous azote (droite) à une dose de 640 kGy.	151
Figure 95: Pics XPS N1s décomposés des surfaces irradiées sous air (gauche) et sous azote (droite) à une dose de 640 kGy.	153
Figure 96: Diffractogrammes de 3 pastilles irradiées sous azote. HAG EB1 à une dose de 110 kGy, HAG EB2 à une dose de 185 kGy et HAG EB3 à une dose de 260 kGy.	154
Figure 97: Images MEB de pastilles irradiées sous azote à une dose de 110 kGy (HAG EB1), 185 kGy (HAG EB2) et 260 kGy (HAG EB3). Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.	156

Figure 98: Images MEB en électrons rétrodiffusés d'une surface irradiée à une dose de 185 kGy sous azote (échelle de 100 μm à gauche et 10 μm à droite).....	157
Figure 99: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a) et irradiées sous atmosphère d'azote (b) à une dose de 110 kGy.....	158
Figure 100: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a) et irradiées sous atmosphère d'azote (b) à une dose de 185 kGy.....	160
Figure 101: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a) et irradiées sous atmosphère d'azote (b) à une dose de 260 kGy.....	161
Figure 102: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges stockées en étuve (a) et irradié UV (b).....	162
Figure 103: Diffractogrammes de deux pastilles. HAG est une pastille de référence vierge et HAG UV une pastille irradiée sous UV (1 passage à 100% soit 1 380 kJ/cm ²).	164
Figure 104: Evolution des angles de contact en fonction du temps pour des pastilles vierges (a), ayant subi 1 passage (1 380 kJ/cm ²).	165
Figure 105: Evolution des angles de contact pour des pastilles vierges (a) et ayant subi 1 passage (1 380 kJ/cm ²) (b),.....	166
Figure 106: Evolution des angles de contact pour des pastilles ayant subi 2 passages (2 760 kJ/cm ²) (c) et 4 passages (5 520 kJ/cm ²) (d) sous la source UV.	167
Figure 107: Diffractogrammes de 4 pastilles. HAG est une pastille de référence vierge, HAG UV1 une pastille irradiée sous UV (1 passage à 100%, HAG UV2 une pastille irradiée sous UV (2 passages à 100%) et HAG UV4 une pastille irradiée sous UV (4 passages à 100%).	169
Figure 108: Images MEB d'une pastille irradiée en UV (4 passages, 5 520 kJ/cm ²). Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.	170
Figure 109: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG vierge (a) et HAG irradié sous UV (b).	171
Figure 110: Spectres Tof-SIMS négatifs de HAG vierge (a) et HAG irradié sous UV (b).	172
Figure 111: Spectre XPS d'une surface d'HA vierge et d'une surface irradiée en UV (4 passages, 5 520 kJ/cm ²), zoom sur le pic N1s.	173
Figure 112: Evolution des angles de contact pour des pastilles vierges (a) et traitées par plasma froid à une puissance de 4W (b) et 6W (c).....	176

Figure 113: Diffractogrammes de 3 pastilles. HAG est une pastille de référence vierge, HAG P4W une pastille traitée par plasma froid à une puissance de 4 Watts et HAG P6W une pastille traitée par plasma froid à une puissance de 6 Watts.	178
Figure 114: Images MEB d'une pastille traitée par plasma froid à une puissance de 6W. Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.	179
Figure 115: Spectres Tof-SIMS positifs de HAG vierge (a) et HAG traité par plasma froid (b).	180
Figure 116: Spectres Tof-SIMS négatifs de HAG vierge (a) et HAG traité par plasma froid (b).	181
Figure 117: Pics XPS N1s, P2p, Pb et Cu2p de la surface traitée par plasma froid à une puissance de 6W.	182
Figure 118: Images MEB de pastilles irradiées successivement par UV puis par électrons. Les images impaires sont obtenues avec les électrons secondaires et les images paires avec les électrons rétrodiffusés.	185
Figure 119: Histogramme de la concentration totale moyenne (en mg/cm ²) de gentamicine libérée par les échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy) qui n'ont pas subi de prélèvements.	193
Figure 120: Antibioigrammes de la quantité de gentamicine (mg/cm ²) présente sur les échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).	195
Figure 121: Antibioigrammes du pourcentage de libération de gentamicine des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).	195
Figure 122: Antibioigrammes des profils cumulés des quantités de gentamicine libérées en mg/cm ² (a) et en pourcentage (b) en fonction du temps pour des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).	197
Figure 123: Antibioigramme de la moyenne (n=3) des diamètres d'inhibition des pastilles qui n'ont pas subi de prélèvements pour des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).	198
Figure 124: Antibioigrammes de la moyenne (n=4) des diamètres d'inhibition pour les prélèvements à différents t des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).	200

Figure 125: AntibioGramme de la moyenne (n=4) des diamètres d'inhibition pour les prélèvements à différents t des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).	201
Figure 126: AntibioGrammes superposés des diamètres d'inhibition en mm (tiret rouge) et du pourcentage de gentamicine libérée des prélèvements stériles pour les pastilles vierges (V), irradiées sous air (EB) et irradiées sous azote (N) (dose de 640 kGy).203	203
Figure 127: AntibioGrammes des profils cumulés des quantités de gentamicine libérées en mg/cm ² en fonction du temps (jusqu'à t=2h) pour des échantillons vierges (V), irradiés sous air (EB) et irradiés sous azote (N) (dose de 640 kGy).....	203